

Spraytørking av pektin

grunnleggende faktorer

Hovedoppgave i galenisk farmasi

Therese Johansen



Avdeling for galenisk farmasi
Farmasøytisk institutt
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet
Universitetet i Oslo
2006

Forord

Denne hovedoppgaven er utført ved Avdeling for galenisk farmasi, Farmasøytisk Institutt, Universitetet i Oslo i perioden november 2005 – desember 2006.

En stor takk til min veileder Sverre Arne Sande for god veiledning og stipendiat Ellen Hagesæther for nyttige innspill. Dere har gjort dette året hyggelig.

Takk også til Helge Gundersen for godt humør og hjelp med spraytørkeren og bruk av annet utstyr.

En takk til Avdeling for farmasøytisk kjemi for lån av frysetørkeren, og Avdeling for farmasøytisk biovitenskap for lån av mikroskop.

Jeg vil også takke til Ingvil Gausemel og Jan Cervenka på GE for hyggelig hjelp til NIR- og størrelsesmålingene.

Jeg vil takke alle ansatte ved avdelingen for bidrag til oppgaven og for et hyggelig og interessant år.

Til mamma og pappa, tusen takk for at dere alltid er der for meg.

Tilslutt vil jeg takke min samboer Torbjørn Brænde Kvenseth for støtte, oppmuntring og teknisk hjelp gjennom dette året.

Blindern, desember 2006

Therese Johansen

Sammendrag

I denne oppgaven ble det ved hjelp av statistisk forsøksplanlegging undersøkt hvilke faktorer som bestemte størrelse og utbytte av spraytørket pektin. Fire forskjellige pektintyper ble spraytørket ifølge et design. De eksperimentelle variablene var konsentrasjon på pektinløsningen, metoksyleringsgrad og amidering av pektin, mens temperatur, viftehastighet, og pumpehastighet var prosessparametere på spraytørkeren.

Sammenhengen mellom variablene, utbyttet og målt størrelse ble undersøkt ved hjelp av PLS 1 analyse.

Det var konsentrasjon, amidierungsgrad og en samspillseffekt mellom temperatur som alle ga positiv effekt på utbyttet.

Temperatur, konsentrasjon, pumpehastighet og amidering forklarte størrelse, alle med positiv effekt.

Det ble foretatt NIR måling både på tørrstoff og en suspensjon av partiklene, for å relatere dette til den målte partikkelstørrelsen. Det så ut til at målingene på suspensjonen kunne forklare størrelsen i akseptabel grad ved hjelp av ni regresjonskoeffisienter.

Det ble også tatt bilder for å kontrollere utseendet på partiklene, og om størrelsesmålingen var riktig, og bildene kunne i en viss grad bekrefte dette.

Innholdsfortegnelse

1 Innledning.....	1
1.1 Bakgrunn	1
1.2 Målsetting.....	1
2 Forkortelser	2
3 Teori	3
3.1 Tykktarmsspesifikk legemiddelfrigjøring.....	3
3.1.1 Hvorfor tykktarmsspesifikk legemiddelfrigjøring?	3
3.1.2 Fysiologiske og mikrobiologiske forhold i human gastrointestinaltrakt.....	3
3.1.3 Ulike formuleringsstrategier for å oppnå tykktarmsspesifikk legemiddelfrigjøring.....	4
3.1.3.a Tidskontrollert frisetting.....	4
3.1.3.b pH-kontrollert frisetting	4
3.1.3.c Utnyttelse av bakteriene i tykktarmen.....	4
3.2 Pektin.....	5
3.2.1 Struktur.....	5
3.2.2 Kjemiske egenskaper.....	7
3.2.3 Stabilitet	7
3.2.4 Egenskaper	7
3.3 Laktose	8
3.4 Spraytørring	8
3.4.1 Innledning.....	8
3.4.2 Partikkeldannelse under spraytørringen	9
3.4.3 Spraytørring av en løsning.....	10
3.4.4 Utseende på partiklene	11
3.4.5 Ulike parameteres teoretiske innvirkning på partikkelstørrelsen.....	11
3.4.5.a Dysestørrelse	11
3.4.5.b Konsentrasjon.....	11
3.4.5.c Reologiske egenskaper	11
3.4.5.d Forstøvningsluftstrømmen	11
3.4.5.c Løseligheten til stoffet.....	12
3.4.6 Fordeler med spraytørkingsprosessen	12
3.4.7 Ulemper med spraytørring.....	12
3.4.8 Bruk av spraytørkeren i industrien	13
3.5 Molekylvektsbestemmelse	13
3.5.1 Egenviskositet	13
3.6 Størrelsesmåling	15
3.6.1 Laserdiffraksjonsmåling ved Lasentec®.....	16
3.7.2 Størrelsesmål [34]	16
3.7 Near Infrared Spectroscopy.....	17
3.7.1 Diffus refleksjon.....	17
3.7.2 Transmisjon.....	18
3.7.3 Størrelsesanalyse med NIRS	19
3.8 Statistisk forsøksplanlegging.....	19
3.8.1 Forsøksdesign.....	19
3.8.1a Faktorielt forsøk	20
3.8.1b Hvordan velge design?	21
3.8.2 Matematisk modellering.....	21
3.8.2.a Prinsipalkomponentanalyse.....	21

3.8.2.b PLS	22
3.8.2.c Samspill	22
3.8.2.d Kalibrering av spektroskopiske data [48]	24
3.8.2.e Tolkning av spektroskopiske data [48]	24
4 Materiale og utstyr	25
4.1 Materiale	25
4.1.1 Til opprensing av pektin	25
4.1.2 Til Mw-bestemmelse	25
4.1.3 Til spraytørring	25
4.1.4 Til Lasentech® måling	25
4.1.5 Til NIR-måling	25
4.1.6 Mikroskopering	25
4.2 Utstyr	26
4.2.1 Opprensing	26
4.2.2 Molekylvektbestemmelse	26
4.2.3 Spraytørring	26
4.2.4 Partikkelstørrelsesanalyse	26
4.2.5 NIR-målingene	26
4.2.6 Mikroskopfotografering	26
5 Metode	27
5.1 Opprensing	27
5.1.1 Opprensing	27
5.2 Molekylvektbestemmelse	27
5.2.1 Na-hexametaphosphat	27
5.2.2 Molekylvektsbestemmelse	27
5.3 Spraytørkeren	30
5.3.1 Prosessparametrene	31
5.3.2 Innledende forsøk	31
5.4 Spraytørring av vann	32
5.4.1 Oppsett for spraytørket vann	32
5.5 Laktoseforsøk	32
5.5.1 Spraytørring av uoppløst laktose	32
5.5.2 Spraytørring av laktoseløsning	32
5.5.2.a Konsentrasjonens påvirkning på avsetning i syklonen og produkttap med eksos	32
5.6 Pektin	33
5.6.1 Valg av pektintyper	33
5.6.2 Forforsøk - spraytørring av pektin	34
5.7 Hovedforsøk spraytørring	34
5.7.1 Oppsett design	34
5.8 NIRS	35
5.8.1 Diffus refleksjon	35
5.8.2 Reproduserbarhet	36
5.8.3 Transmisjon	36
5.8.4 Reproduserbarhet	36
5.9 Størrelsesmåling ved Lasentec®	36
5.9.1 Oppsett	36
5.9.2 Måling	37
5.10 Modellering på størrelse og utbytte	37
5.10.1 Modellering på prosessfaktorene, utbytte og størrelsesmål	37
5.10.2 PCA på størrelsesmål	37

5.10.3 Modellering på spektroskopi	38
5.11 Mikroskopfotografering av mikrosfærene	38
5.11.1 Valg av fuktemiddel	38
6 Resultat	40
6.1 Molekylvektbestemmelse	40
6.1.1 70 DM pektin	40
6.1.2 50 DM pektin	41
6.1.3 35 DM pektin	42
6.1.4 29 DA pektin	43
6.2 Resultat av forforsøk	44
6.2.1 Resultat av spraytørrking av vann	44
6.2.2 Spraytørrking av suspensjon	44
6.2.3. Konsentrasjonens påvirkning på avsetning i syklonen og tap med eksosen	45
6.2.4 Pektin	45
6.3 Utbytte	46
6.3.1 Utbytte	46
6.3.2 PLS 1 modellering på prosessfaktorene og utbytte	47
6.4 Lasentec® størrelsesmåling	50
6.4.1 Resultat fra størrelsesmåling	50
6.4.2 PCA på størrelsesmål	50
6.4.3 PLS 1 resultat på størrelse - Lasentec®	52
6.5 Modellering på NIR målingene på tørrstoff	53
6.5.1 NIR måling på tørrstoff	53
6.5.1 Reproduserbarhet	54
6.6 Modellering på NIRS på suspensjon	54
6.6.1 PLS 1 modell på suspensjonsdata og størrelse	55
6.6.2 Reproduserbarhet	57
6.7 Mikroskopbilder av mikrosfærene	57
7 Diskusjon	61
7.1 Molekylvektbestemmelse	61
7.1.1 Molekylvekt	61
7.2 Utbytte	61
7.2.1 PLS 1 analyse	61
7.3 Størrelse	63
7.3.1 PCA på størrelsesmål	63
7.3.2 PLS 1 på størrelse	64
7.3.3 PLS 1 på størrelse og NIR tørrstoff	66
7.3.4 PLS 1 på størrelse og NIR suspensjon	67
7.4 Mikroskopbilder	67
7.4.1 Mikroskopbilder	67
7.4.2 Mikroskopbilder og størrelse	68
8 Konklusjon	70
9 Referanseliste	71
10 Vedlegg	74

1 Innledning

1.1 Bakgrunn

Tykkarmsspesifikk legemiddelfrigjøring gir en fordel i behandling av lokal sykdom i tykktarmen, hvor systemiske effekter kan reduseres. Denne formen for legemiddeldelivery har også et potensial for systemisk delivery av peptider og proteiner.

Pektin er et surt polysakkarid og brytes ikke ned av kroppens egne enzymer. En vil dermed kunne oppnå lokal frisetting i tykktarmen, hvor bakterier er i stand til å bryte ned pektin.

Spraytørket pektin vil være små kuler, og kan spraytørkes sammen med virkestoffet i en formulering. Siden partiklene er runde vil flyten være god, og hindre avblanding siden legemiddelet er innkorporert i polysakkaridmikrosfærene.

1.2 Målsetting

Det var ønskelig å undersøke hvilke parametere som har noe å si på partikkelstørrelse og utbytte ved spraytørring av pektin. Det skulle også undersøkes om størrelse kunne relateres til Near Infrared Spectroscopy, siden dette er en rask metode å måle størrelse som krever lite prøveopparbeidelse.

2 Forkortelser

c25	25 persentilen
c75	75 persentilen
Da	Dalton
DA	”Degree of amidation”
DM	“Degree of methoxylation”
FBRM	“Focused beam reflectance measurement”
GIT	Gastrointestinaltraktus
IBD	Irritable bowel disease
ICJ	”ileocecal junction”
IQCS	“interquartile coefficient of skewness”
Mw	Molekylvekt
NIR	”Near Infrared Spectroscopy”
PCA	”Principal component analysis”
PC	“Partial Least Squares Component” og “Principal Component”
PLS	“Partial Least Squares Regression”
T _{wb}	“wet bulb temperature”

3 Teori

3.1 Tykktarmsspesifikk legemiddelfrigjøring

I denne oppgaven menes uttrykket tykktarmsspesifikk legemiddelfrigjøring at en formulering skal inntas oralt og at frigivelse av legemiddel skal forsinkes til tykktarmen. Ulike alternativer finnes, blant annet prodrug, pH avhengige system, tidsaktiverte system, trykkfølsomme system og system for aktivering ved hjelp av mikroflora i tykktarmen.

3.1.1 Hvorfor tykktarmsspesifikk legemiddelfrigjøring?

I tillegg til å gi en mer effektiv terapi ved colonrelaterte sykdommer, har tykktarmsspesifikk legemiddelfrigjøring potensialet til å møte viktige uadresserte terapeutiske behov, som peroral administrering av makromolekyler, proteiner og peptider [1]. Det har blitt vist at insulin, kalsitonin og vasopressin kan bli absorbert med en viss biotilgjengelighet i denne regionen [2], og dette kan forbedres med absorpsjonsenhancere [3].

3.1.2 Fysiologiske og mikrobiologiske forhold i human gastrointestinaltrakt

Den humane gastrointestinaltrakten (GIT) består av et komplekst økosystem som har både anaerobe og aerobe mikroorganismer. Antallet mikroorganismer øker gradvis nedover i tynntarmen, men øker mange størrelsesordner forbi ileocecal junction (IJC), som er lukkemekanismen mellom tynntarm og tykktarm [4, 5].

De gradvise fysiologiske forandringene langs GIT er nedgang i antall fordøyelsesenzymer, motilitet, væskeinnhold og økning i pH. Disse endringene er ikke passende for å utløse en dramatisk og rask forandring i et frisettingssystem for å oppnå tykktarmsspesifikk legemiddelfrigjøring, men det er derimot tilstedeværelsen av spesifikke bakteriepopulasjoner [1].

Tabell 1: *Variasjoner i pH og residenstid i GIT i friske personer [5-7]*

Sted	pH	Residenstid
Magesekk	1.5-3.5	1 minutt- 8 timer
Tynntarm	5-7.5	3-5 timer
Tykkarm	5.5 – 7.0	Under 1 time til 20 timer

Når det gjelder passasjetiden av legemidler gjennom tykkarm, kan denne påvirkes av patofysiologien ved ulike sykdomstilstander som tykktarmskreft, diaré og ulcerøs kolitt [1], og måltidsmønstre og mengde fiber i kosten [5].

3.1.3 Ulike formuleringsstrategier for å oppnå tykktarmsspesifikk legemiddelfrigjøring

Det er forskjellige strategier man kan benytte seg av for å oppnå tykktarmsspesifikk legemiddelfrigjøring:

3.1.3.a Tidskontrollert frisetting

Her er det mulig å lage en formulering som skal avgi legemiddel etter en viss tid, for eksempel en eroderende matriks [5]. Det er vanskelig å fastslå eksakt residenstid av faste doseringsformer i magesekken og tynntarmen. Residenstiden i GIT avhenger av måltidsmønstre, sammensetning av måltider og av peristaltikkintensiteten i tarmmuskulaturen. Som et resultat kan måltidene forbli i magesekken fra noen få minutter til 8 timer og mellom 3 til 5 timer i tynntarmen [8].

3.1.3.b pH-kontrollert frisetting

En kan formulere en pH sensitiv coating som løser seg opp i basisk miljø [5], men denne strategien har begrenset egnethet siden forskjellene i pH mellom tynntarm og tykkarm er liten (se tabell 1). Det er stor variasjon rundt hvor lang tid formuleringen oppholder seg i magesekken (se tabell 1), derfor er det vanlig med en syreresistent coating [5].

3.1.3.c Utnyttelse av bakteriene i tykktarmen

Et prodrug kan få reduksjon eller hydrolyse via enzym fra bakterier i tykktarm, av bindingen mellom bærersubstansen og legemiddelet. Typiske enzymer inkluderer azoreduktase, glycosidase og glukuronidase. Prodrug er i stand til å oppnå stedsspesifikk frigjøring, men dette stoffet vil bli ansett som en helt ny substans fra regulatorisk hold. Så langt har denne

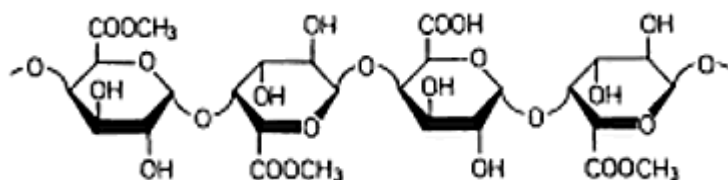
tilnærmingen blitt brukt i IBD [1], men azoforbindelser er vist å ha bivirkninger i rundt 15 % av pasientene [5]. Det er også mulig å lage syntetiske azopolymere som en coating over legemiddelpartikler [9].

En annen lovende strategi er å benytte et polysakkarid som et matriksdannende hjelpestoff, som for eksempel pektin, som bare kan degraderes i tykktarmen. Enzymatisk degradering av polysakkarid er en langsom prosess, som vanligvis trenger over 12 timer for fullstendig degradering [1, 10]. En annen strategi er en biodegraderbar polymer coating som via mucoadhesjon vil sørge for stedsspesifikk legemiddelfrigjøring [8].

Legemiddelfrigjøring fra hydrofile matrikser blir kontrollert av fuktingshastigheten av matriksen og egenskapene til gelen som dannes ved hydreringen som påvirker legemiddeldiffusjonen og erosjonen av gelen. Rask hydrering er viktig for å danne et gellag og hindre at en initial "burst" av legemiddelfrigjøring. Jo tykkere gellaget er, jo lenger er diffusjonsveien for legemiddelmolekylene [11]. I tillegg varierer tiden for gastrisk tømming ved hver individuelle doseringsform og fysiologiske funksjoner som gastrointestinal motilitet, kan oppløsningsmønsteret forandres med tiden og eksponeringen av pH'en i magesekken [12]

3.2 Pektin

Pektin isoleres fra plantens primære cellevegger [8] og det er et heterogent produkt, som varierer veldig fra plante til plante [13]. Avhengig av fra hvilken plante pektin er isolert fra, varierer mengden metylester substitueringsgrad, men er alltid høy [14].



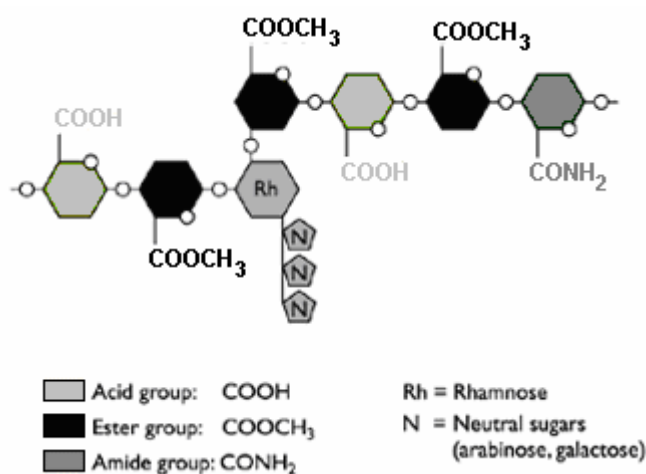
Figur 1: Pektin [15]

3.2.1 Struktur

Pektin er lineære polysakkarid som består av α -1,4 D-galakturonsyre og 1,2 D-rhamnose med D-galaktose og D-arabinose sidekjerder [8, 13, 16, 17], som kan variere fra 10 000 til 400 000 Dalton (Da) [16], med en gjennomsnittlig molekylvekt på 50 000 til 150 000 Da [4]. Pektin

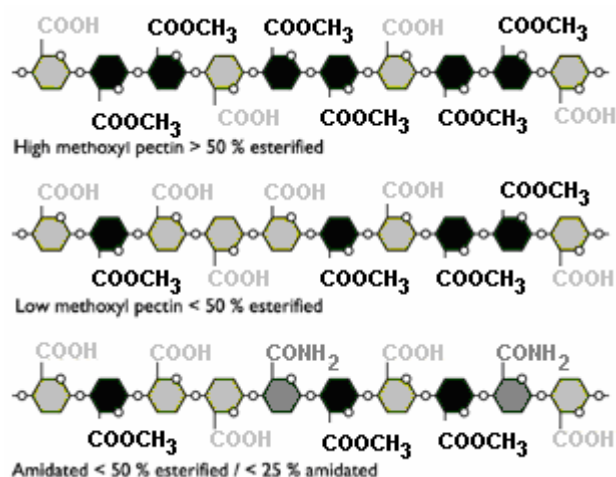
har høy vannløslighet, men denne kan reduseres med ulike divalente kationer som eks Ca^{2+} -ioner [17].

Rhamnose enhetene fører til ”kinks” i polygalakturonsyrekjedene [13, 16], og disse påvirker geldannelse siden de ødelegger organiseringen av makromolekylet som er nødvendig for å danne et gelnettverk [13]. På rhamnosemolekylet kan det være festet nøytrale sukker som arabinose og galactose [17], disse kalles da en sidegruppe. Områdene med mange nøytrale sidegrupper kan påvirke geldannelse og konformasjon av polymeren i løsning [13, 17], og kalles hårete, mens områder med lite sidegrupper kalles glatte [17].



Figur 2: Rhamnose (Rha) fører til kinking av polygalakturonkjeden [18]

Grad av esterifisering forklares ut fra hvor stor andel av uronidkarboksylidelene som er esterifisert av metanol [14, 16, 17]. Om pektinet har en metoksyleringsgrad større enn 50 %, kalles den en høymetoksyliert (HM) pektin, om metyleringsgraden er mindre enn 50 % kalles den lavmetoksyliert (LM) pektin [7, 17]. Om en syregruppen ikke er metylert kan den være amidert [16, 17].



Figur 3: Oversikt over metoksylering og amidering av pektin [18]

3.2.2 Kjemiske egenskaper

Pektin er vannløselig [8, 14] og pKa for syregruppen er omtrent 3 [7]. Graden av metoksylering bestemmer løseligheten til pektin, jo høyere metoksyleringsgrad, jo lavere vannløslighet [19]. Viskositeten til en pektinløsning er blant annet avhengig av Mw, DM, pH og ionestyrke i løsningen, samt temperaturen [16].

3.2.3 Stabilitet

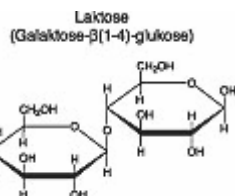
Pektin blir depolymerisert ved høy temperatur [7, 16, 17], og dette skjer via β -eliminasjon [19]. LM pektin er mer kjemisk stabile mot fuktighet og varme enn HM pektin, siden sistnevnte har en tendens til å deesterifisere i fuktig atmosfære [17, 19]. I syre kan pektin bli deesterifisert og undergå hydrolyse, og kan undergå β -eliminasjon i base om nabosukkeret er metoksyliert [16, 17].

3.2.4 Egenskaper

Pektin er et løselig matfiber [17], og det er et trygt tilsetningsstoff [16, 17]. Pektin har ulike fysiologiske egenskaper, der den gir gunstig effekt på kolesterolnivået i blodet, og kan redusere forgiftning med toksiske kationer. Pektin har også effekt på koagulasjonen [17]. Pektin blir også brukt i farmasøytisk formuleringssteknikk [17, 20]. Blant annet kan pektin absorbere mange ganger sin egen vekt i vann, og lage gel under spesielle betingelser [16, 17]. Pektin kan blant annet inngå ione-, H- bindinger, hydrofobe interaksjoner og koordinasjonsbånd [16].

3.3 Laktose

Laktose ble valgt som en substans for innledende forsøk siden den skulle være lett å spraytørke. Laktose har lav toksisitet og blir mye brukt som tablettfyllstoff, og blir også brukt som fyllstoff i tørrpulverinhalatorer. Prosessen spraytørking av laktose for direktekomprimering ble patentert 1958 [21].



Figur 4 Laktose

Tabell 2: Eksempler på spraytørket laktose på markedet

Markedsnavn	Produsent
Pharmatose DCL 11	DMV Pharma
Spray Process 315	Foremost Farms USA
Fastflo 316	Foremost Farms USA

3.4 Spraytørking

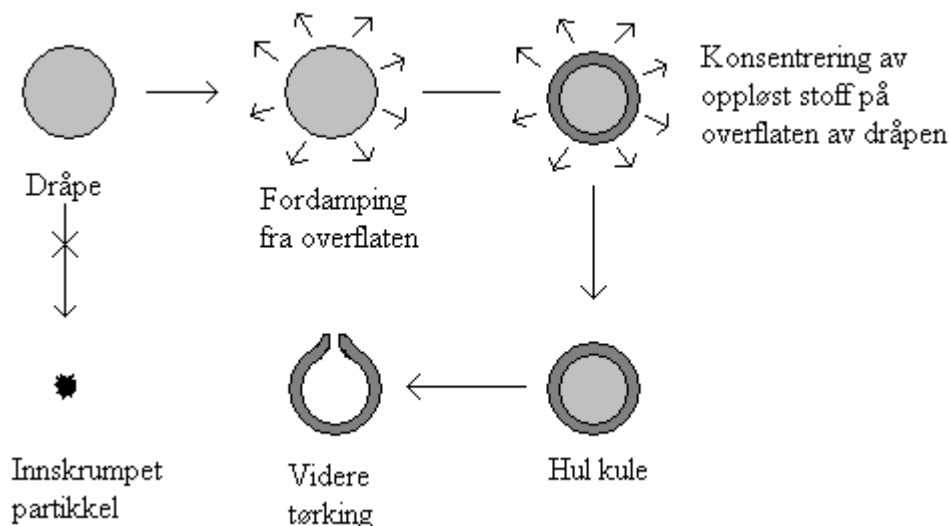
3.4.1 Innledning

Spraytørkeren kan bli brukt for å tørke nesten hvilket som helst stoff, i oppløsning eller en suspensjon. Den er best egnet for termolabile stoffer siden den effektive temperaturen er lav på grunn av fordampning, og den korte residenstiden i tørkekammeret [20, 22], og er den metoden, ved siden av frysetørking, som er mest brukt for å tørke biomolekyler som proteiner, peptider og enzymer [23]. Det finnes to hovedtyper spraytørkere, jetforstøvere hvor løsningen går gjennom en dyse, og roterende forstøvere, hvor løsningen blir føret på en skive som spinner rundt, der væsken tilslutt brytes opp i små dråper på kanten av skiven [20]. En spraytørker gir et stort overflateareal for varme og massetransport ved å forstøve væsken til små dråper. Disse blir sprayet inn i en strøm av varm luft, slik at hver dråpe tørker til en individuell fast partikkel. En tørker med et syklonkammer sørger for god sirkulasjon av luften, som fører til at varme- og masseoverføringen går raskere og oppfordrer til separasjon av tørkede partikler fra sentrifugalkreftene [20]. Spraytørking har også andre fordeler i forhold til

andre tørkemetoder, partikkelstørrelsen på pulveret er kontrollert i ett enkelt trinn, og morfologien og partikkeltettheten kan bli kontrollert. Størrelse og tetthet er partikkelegenskaper som er avgjørende for flere deliverysystem, som for eksempel inhalasjonspulver og suspensjoner for dermal legemiddeldistribusjon [23]. Spraytørker med dyse er mye brukt for spraytøking av pektin [24-26]

3.4.2 Partikkeldannelse under spraytøkingen

Elversson med kollega [23] fant at tøkingen av dråpene i spraytørkeren best kunne simuleres med free flight metoden, hvor dråpene får falle fritt i et høyt tårn. De fant at fordampingen av vann fra dråpen begynner med en gang etter forstøvning. Tøkingen vil skje ved en konstant hastighet så lenge overflaten er mettet. Under denne korte tidsperioden, som strekker seg fra 10^{-3} til 10^{-4} sekunder, vil temperaturen på overflaten av dråpen være lik temperaturen på wet bulb temperatur, T_{wb} [23]. T_{wb} er temperaturen på et vått/fuktig termometer, hvor fordampningen av fuktigheten vil føre til en lavere temperatur sammenlignet med tørt termometer [20]. På samme tid overføres fuktigheten ved diffusjon og konveksjon på overflaten på dråpen. En partikkel blir etablert når konsentrasjonen på overflaten når et visst nivå, kalt kritisk konsentrasjon, og den vil avhenge av løseligheten til materiale ved T_{wb} [23]. Dråpen vil krympe helt til stoffet feller ut på overflaten av dråpen. Det må være en viss tykkelse på den faste overflaten for å stabilisere partikkelen mekanisk. Mens tøkingen framskrider, selv om den går saktere, vil temperaturen i løpet av 10^{-5} til 10^{-3} sekunder nå outlet temperaturen (utgangstemperaturen) i spraytørkeren. Avhengig av residenstiden i tørkekammeret, som varierer fra 10^{-1} til 10 sekunder avhengig av størrelsen, vil partikkelen forbli ved T_{out} til den blir avsatt i oppsamlingskammeret. I tillegg vil de reologiske egenskapene til sprayløsningen påvirke krympingen [23].



Figur 5: Tørring av dråpe til sfærisk partikkel i spraytørring [20].

3.4.3 Spraytørring av en løsning

Generelt er det anbefalt å starte en forsøksserie med en lav til medium temperatur (150-180 °C), maksimum viftehastighet og lav pumpehastighet. Optimale spraybetingelser er oppnådd når ingen fukting av veggene i tørkekammeret blir observert, og dette kan oppnås ved å senke pumpehastigheten eller øke temperaturen [27]. Det er også vanlig med tap av partikler med eksosen, og dette avhenger vanligvis av viftehastighet og partikkelvekt. Mest effektiv tørring blir generelt oppnådd med høyeste kompatible temperatur [27].

Partikkelkarakteristikken blir bestemt av dråpestørrelsen, så typen forstøver er viktig.

Jetforstøvere blir lett blokkert av rask fordampning og avsetning av fast stoff på dysen, og dråpestørrelsen blir sannsynlig varierende [20]. Det er derfor konstruert en jetdeblokkerer, som er en nål som raskt skytes ut gjennom dysen for å fjerne eventuelle avsetninger av stoff [27]. For en svært viskøs løsning kan det være mulig å varme opp løsningen, om viskositeten blir lavere med høyere temperatur. En annen mulighet er å tilsette et løsemiddel til løsningen, men i ekstreme tilfeller kan dette føre til at løsemiddelet evaporerer før forstøvningen er ferdig, og etterlater seg et nett heller enn diskrete partikler [28].

Når pumpen fører løsningen inn i en forstøver i nærvær av luft, blir gassbobler av forskjellige størrelser holdt igjen og dispergert i løsningen. Ved forstøvning, kan denne luft-væske dispersjonen bli spredt til dråper, hvor noen av luftboblene kan fanges. Dannelsen av vakuoler kan ha signifikante konsekvenser ved å redusere bulk tettheten av det spraytørkede produktet [28].

3.4.4 Utseende på partiklene

Spraytørkede produkter er uniforme i utseende. Partiklene har en karakteristisk form, i form av en hul sfære, noen ganger med et lite hull i overflaten [20]. Dette kommer fra tørkeprosessen, når dråpen kommer inn i den varme luftstrømmen og tørker på overflaten. Dette danner en skorpe, mens partikkelen fortsatt er flytende på innsiden. Væsken fordamper så, og dampen på innsiden av partikkelen kommer ut ved å sprengte et hull i overflaten [28]. Dette fant også Elversson og Millquist-Fureby [23], da den teoretiske partikkelstørrelsen beregnet ut fra dråpestørrelsen var mindre enn målt. Blir det hulldannelse i partiklene, tyder dette på et under- eller overtrykk i partiklene under tørkingen. Lee med kollegaer fant at straks etter spraytørking av pektin, fikk mikropartiklene en sprekk i overflaten, og de er heller ikke fullstendig sfæriske [24].

3.4.5 Ulike parameteres teoretiske innvirkning på partikkelstørrelsen

3.4.5.a Dysestørrelse

Elversson med kollega fant at økning i dråpestørrelse fører til økning i partikkelstørrelse. Om dysestørrelsen økes fra 1,5 til 2,0 mm, førte dette til en økning i partikkelstørrelse på omtrent 35-55 % [23].

3.4.5.b Konsentrasjon

Elversson med kollega [23] fant også at partikkelstørrelsen er avhengig av konsentrasjonen på matingsløsningen, men ikke i en lineær sammenheng.

3.4.5.c Reologiske egenskaper

De reologiske egenskapene til løsningen er viktig for å styre prestasjonen til en forstøver [20, 28], da skjæringshastigheten øker gjennom dysen [28]. Viskositeten her vil påvirke forstøvningen av løsningen og størrelsesfordelingen av produktet [22], og veldig viskøs løsning vil kunne avsettes på dysen og veggene i tørkekammeret, men problemet er mest uttalt for forstøvere med en roterende disk [28].

3.4.5.d Forstøvningsluftstrømmen

For å få større partikler, kan en senke forstøvningsluftstrømmen [23].

3.4.5.c Løseligheten til stoffet

Om løseligheten for stoffet er lav i løsningsmiddelet kan dette få konsekvenser for størrelsen. Elversson med kollega [23] fant at partikkelen størknet raskere ved lav løselighet, og dermed ikke fikk tid til å krympe.

3.4.6 Fordeler med spraytørkingsprosessen

- Millioner av små dråper som gir et stort overflateareal for varme- og masseoverføring, slik at fordampingen er veldig rask. Den faktiske tørketiden for en dråpe er bare en fraksjon av et sekund, og den totale tiden i spraytørkeren er bare noen få sekunder.[20, 23]
- Siden fordampingen er veldig rask, når ikke dråpen en spesielt høy temperatur. Det meste av varmen blir brukt som latent varme til fordampning og slik blir temperaturen på partiklene holdt lav ved avkjølingen fra fordampingen [20].
- Den karakteristiske partikkelen gir produktet en høy bulkthet [20, 21], og videre rask oppløsning på grunn av det høye overflatearealet.[20] Bulktheten til spraytørket produkt avhenger av om partiklene har utblåsningshull eller ikke. Er partiklene hele blir bulktheten lavere, mens utblåsningshull fører til en tetthet mer lik sann tetthet for produktet [23].
- Gitt at en passende forstøver er valgt, vil det resulterende pulveret ha en uniform og kontrollerbar partikkelstørrelse [20, 23].
- Produktet er fritt flytende, med nesten sfæriske partikler, og er spesielt passende for tablettproduksjon siden de har en veldig gode flyt- og komprimeringsegenskaper [20].
- Arbeidskostnadene er lave, produktet er et fritt flytende pulver fra en fortynnet løsning/suspensjon i en enkelt operasjon, uten behov for videre håndtering [20].

3.4.7 Ulemper med spraytørking

- Utstyret er veldig uhåndterlig, og det medfølgende ekstrautstyret er dyrt. I store installasjoner kan tørkekammeret være så stort som 12 meter i høyden og 6 meter i diameter [20].
- Den totale termale effektiviteten er ganske lav, luften må være varm nok når den forlater tørkeren at kondensering av fuktighet unngås. I tillegg vil store volum av varmluft passere gjennom kammeret uten å komme i kontakt med partikkelen, og bidrar på denne måten ikke direkte til tørkeprosessen [20].

- Utbyttet er dårligere sammenlignet med andre tørkemetoder som for eksempel frysetørring og tørring i vakuumovn [29].

3.4.8 Bruk av spraytørkeren i industrien

Eksempler på både løselige og uløselige substanser som har blitt spraytørket er sitronsyre, natriumfosfatgelatin, stivelse, bariumsulfat, kalsiumfosfat og noen pulveriserte antibiotika formuleringer for rekonstruering i sirup. Spraytørring kan også produsere sfæriske partikler i størrelsesorden som kan pustes inn, 1-7 μm , som har gitt tilfredsstillende resultater for legemiddeladministrering fra tørrpulverinhalatorer [20].

Det er mulig å bruke spraytørkeren til aseptisk framstilling av pulver via filtrert luft for å tørke produkter som serumlysat. I tillegg kan noen spraytørkere operere inne i et lukket kretssystem, med en inert gass for å minimere oksidasjonen av produktet [20]. Flyktige løsemidler kan bli gjenvunnet fra slike system [24].

3.5 Molekylvektbestemmelse

Nøyaktige molekylvekt (M_w) bestemmelser er vanskelig, spesielt på grunn av den ekstreme ulikheten mellom kommersielle pektinprøver, også fordi pektinmolekylene har en tendens til å aggregere i løsning [13]. Molekylvekten som bestemmes er gjennomsnittlig, (\overline{M}_w), siden de individuelle M_w enhetene ikke kan bestemmes for seg [30]. \overline{M}_w kan bestemmes ved osmotisk trykkmåling, kjemisk analyse [30] eller lysspredning [13].

3.5.1 Egenviskositet

Denne metoden baserer seg på at det er en lineær sammenheng mellom molekylvekt og egenviskositet, eller "intrinsic viscosity" (η). Viskositet sier noen om en væskes motstand til flyt [31], og mer konsentrerte løsninger har generelt høyere viskositet.

Relativ viskositet (η_r) $\eta_r = \frac{\eta_s}{\eta^\circ}$, der η_s er løsningens viskositet og η° er løsningsmiddelets

viskositet

Spesifikk viskositet (η_{sp}) $\eta_{sp} = \eta_r - 1$

Redusert viskositet, $\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C}$ der C er konsentrasjon av polymer [31].

Ved måling av egenviskositet blir det lagd løsninger med ulike konsentrasjoner og tiden en løsning bruker på å plassere to sensorer på et viskosimeterkapillær blir målt. Spesifikk viskositet blir da $\frac{t}{t_0} - 1$, der t representerer tid [32].

Ved fortynnede polymerløsninger kan redusert viskositet avhenge lineært av polymerkonsentrasjonen. Den empiriske formelen for å uttrykke dette er:

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = (\eta) + k'(\eta)^2 C$$

Ligning 1

Der k' er Huggins konstant og C er konsentrasjonen [13].

Når konsentrasjonen går mot 0 får vi:

$$\lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{sp}}{C} \right) = [\eta]$$

Ligning 2

Sammenhengen mellom $\overline{M_w}$ og egenviskositeten uttrykkes ved Mark-Houwink ligningen [31, 32]:

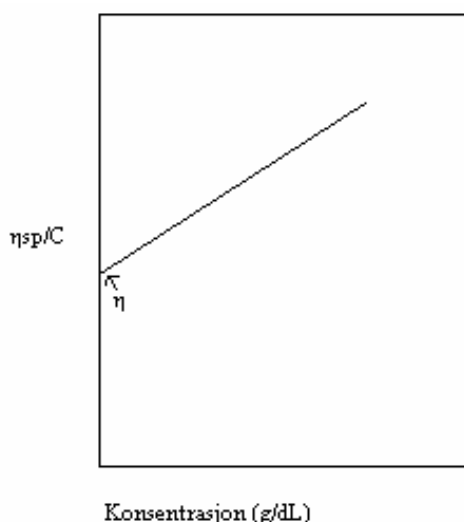
$$(\eta) = K \overline{M_w}^\alpha$$

Ligning 3

Der K og α er empiriske konstanter.

Den lineære sammenhengen mellom polymerkonsentrasjonen og $\frac{\eta_{sp}}{C}$ vil gi en ligning

$y = ax + b$. Huggins konstant kan uttrykkes som $k' = \frac{a}{b^2}$ [20, 32], og gir informasjon om interaksjon mellom polymer og løsemiddel[31].



Figur 6: Plott som benyttes til å bestemme egenviskositeten [31]

For å bestemme egenviskositeten lager man en graf med redusert viskositet på y-aksen og konsentrasjon på x-aksen og ekstrapolerer til 0. Egenviskositeten (η) er nivået på y når x er null (se figur 6).

K og α defineres for én type polymer i ett spesielt løsemiddel med konstant ionestyrke. Disse konstantene sier noe om polymerens konformasjon og hvor bra løsemiddelet er for denne polymeren (hvor utstrakt polymeren er) [31]. Det er særlig viktig for et løsemiddel å kunne hindre aggregatdannelse, da dette vil ødelegge forsøket.

Et bra løsemiddel kan gi en k' på ca 0,4, og her er det høyeste viskositet. Mens en k' på ca 0,5 er det like mye frastøtning som tiltrekning i systemet, og man har θ -betingelser [32]. Sfæriske molekyler viser ofte en α -verdi på ca 0, mens mer stavformede molekyler viser en α -verdi på over 1. Et molekyl som er i en tilfeldig konformasjon har en α -verdi på ca 0,5 [33].

3.6 Størrelsesmåling

Det finnes mange forskjellige metoder for å måle størrelse, blant annet laserdiffraksjon, sikting, mikroskopmetoder, electrical stream sensing zone method (coulter counter) og sedimentasjonsmetoder [34].

3.6.1 Laserdiffraksjonsmåling ved Lasentec®

Både analyser for store og små partikler baserer seg på interaksjon av laserlys med partikler [35]. Proben består blant annet av en laserstråle som blir sendt gjennom et rundt safirvindu, og laserstrålen er veldig fokusert akkurat ved vindusoverflaten. Laseren blir så beveget slik at den følger en vei ved omkretsen av vinduet, og den beveger seg så raskt (2-6 m/s) at partikkelbevegelsen blir forsvinnende liten i forhold. Når partiklene passerer forbi overflaten på vinduet, vil laserstrålen spredes på overflaten til partikkelen, og denne reflekteringen registreres helt til laserstrålen når den andre siden av partikkelen.



Figur 7: Lasentec D600L [36]

Programvaren vil kunne beregne størrelsen på partikkelen ved å måle tiden refleksjonen varer og gange dette med hastigheten på skanningen. Denne avstanden kalles kordelengde, og er en rett linje mellom hvilken som helst side av partikkelen [37]. Hundretusener korder blir typisk målt og talt per sekund, som gir en robust kordefordeling [35].

3.7.2 Størrelsesmål [34]

For å kunne sammenligne ulike pulvere med forskjellig partikkelfordeling, kan denne fordelingen brytes ned i forskjellige størrelsesområder.

Median er den midterste målingen, og vil dele en størrelsesfordelingskurve i to like halvparter (halvparten av partiklene er større/mindre enn medianen). På samme måte vil 25 persentilen (c_{25}) dele den nedre og 75 persentilen (c_{75}) dele den øvre halvparten i like deler (25 % henholdsvis 75 % av partiklene mindre enn den aktuelle persentil). Det er mulig å bruke ulike mål for å beskrive størrelsesdata, blant annet median, gjennomsnitt og interquartile coefficient of skewness (IQCS). Moden er den størrelsen der det er målt flest partikler.

IQCS kan være alt mellom -1 og 1, og om verdien er 0 er fordelingskurven helt symmetrisk. Den kan beregnes etter følgende formel:

$$IQCS = \frac{(c75 - median) - (median - c25)}{(c75 - median) + (median - c25)}$$

Ligning 4

3.7 Near Infrared Spectroscopy

Near Infrared Spectroscopy (NIRS) har fått en økt bruk i farmasøytisk industri, og er offisiell i Ph. Eur. [38]. Både i kvalitative analyser som kvalitetstesting av råmaterialer, doseringsformer som tablettgranulat, pakkemateriale, polymorfe former, optisk og strukturelle isomere [39, 40], og i kvantitative analyser som bestemmelse av partikkelstørrelse, vanninnhold, aktivitet [38, 39].

NIR regionen av spektrum fra synlig område (700 nm) til 3000 nm ($13\,000\text{ cm}^{-1}$ til 3300 cm^{-1}) [39]. I NIRS blir prøven bestrålt med ett eller flere smale bånd av stråler som strekker seg fra 1 til $2,5\mu\text{m}$ ($10\,000$ til 4000 cm^{-1}) [39].

3.7.1 Diffus refleksjon

Diffus refleksjon oppstår når strålingen penetrerer overflatelaget av partikkelen og eksiterer vibrasjonsformen til det analytiske molekylet, og blir spredt i alle retninger.

Refleksjonsspekteret som blir resultatet, er avhengig av sammensetningen av prøven [39].

Ved bølgelengder prøven absorberer mye stråling, vil det i kun liten grad reflekteres prøver som kan registreres av detektoren. Man kan således plote intensiteten av refleksjonsstrålingen som en funksjon av bølgelengde [38].

Refleksjon, R , er forholdet i intensitet av stråling reflektert fra prøven, til refleksjon av en standard reflektor, eller bakgrunn [40]. I dette tilfellet er den oppgitt som % R , altså prosent reflektert fra prøven.

$$\%R = \frac{I_S}{I_R} \cdot 100$$

Ligning 5

Hvor I_S er intensiteten av strålen reflektert fra prøven og I_R er intensiteten fra en referansestandard, vanligvis bariumsulfat [41].

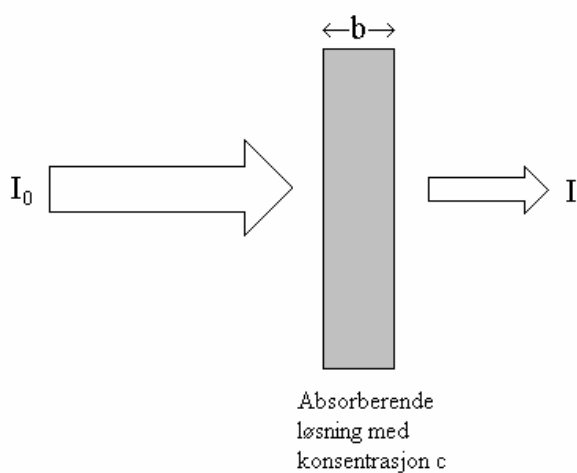
3.7.2 Transmisjon

Transmisjon T , av en prøve er fraksjonen av innfallende stråling sendt gjennom prøven.

$$T = \frac{I}{I_o}$$

Ligning 6

Hvor I_0 er strålingsintensiteten ut av lyskilden, og I er målt intensitet gjennom prøven [42, 43]

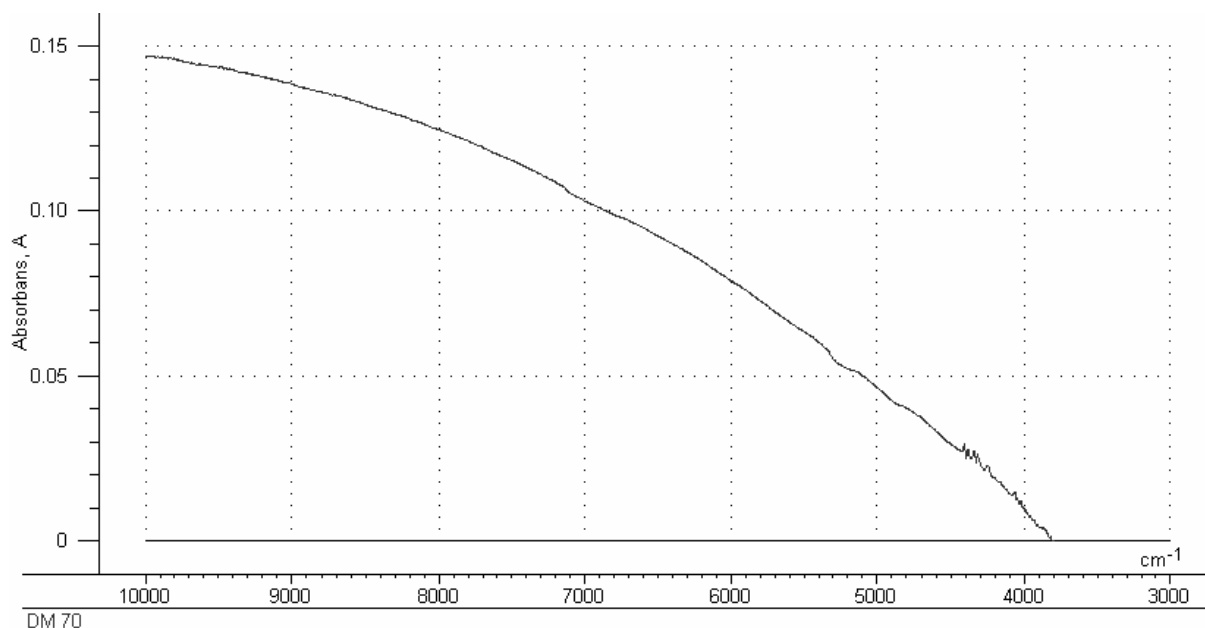


Figur 8: Absorbans av stråle i prøveløsning [42]

Absorbans, A , er fraksjon stråling som blir absorbert av prøven, og kan defineres av formelen

$$A = -\log T = \log \frac{I_o}{I}$$

Ligning 7



Figur 9: Absorbansspekter av DM 70 som spritsuspensjon

NIR instrumentet måler transmisjon, men data ble transformert til absorbans siden dette er en lineær skala, som det lettere å gjøre beregninger med.

3.7.3 Størrelsesanalyse med NIRS

Refleksjonsteknikker er ekstremt sensitive for overflatetekstur [40]. Ciurczak rapporterer en lineær sammenheng mellom alle bølgelengder i NIRS og gjennomsnittlig partikkelstørrelse. NIRS er en rask metode som vil tillate mange målereplikater, og vil gi en sann partikkelstørrelsesfordeling i hele batchen [39]. Mye tid og arbeid kreves for etablering av metode, men når dette først er gjort, er det en rask metode som krever liten prøveoppbevaring [42]. Det må være et krav at stoffene er i stand til å reflektere strålene.

3.8 Statistisk forsøksplanlegging

Statistisk forsøksplanlegging innebærer å legge opp et forsøksdesign, for deretter å modellere matematisk på resultatene ved hjelp av statistikk. Disse to operasjoner er ikke uavhengige av hverandre, da forsøksdesignet er avgjørende for hva man kan få ut av resultatene.

3.8.1 Forsøksdesign

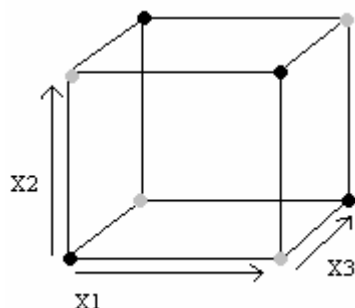
Et forsøksdesign legges ut etter hva som er ønskelig å få ut av forsøkene. Hensikten med forsøksdesign er å få bestemt flest mulig faktorer med færrest mulig forsøk, i tillegg til at man

har et bra redskap til å bestemme samspillseffekter, altså om faktorer endrer sin innflytelse på et system avhengig av nivået til andre faktorer [44].

3.8.1a Faktorielt forsøk

Det vil si at man har kontroll på faktorene man skal bruke, og at man selv bestemmer nivået på dem, og at de kan varieres uavhengig av de andre faktorene.

Et fullfaktorielt 2 nivå forsøk vil gi 2^n eksperiment, mens et redusert faktorforsøk av samme 2 nivå vil gi 2^{n-k} antall forsøk, der k er en reduseringsfaktor. Redusert faktor design vil si at man i stedet for å kombinere faktorene i alle mulige kombinasjoner, ikke undersøker alle kombinasjoner av nivåer av alle faktorene.



Figur 10: Fullt og redusert faktorforsøk på et 2 nivå design med 3 variabler. Ved et fullfaktorielt design benyttes både grå og sorte hjørner, mens ved et redusert design, enten svarte eller grå.

Dataprogrammet tar seg av beregningen av samspill.

Hva som kan beregnes ut fra designet, avhenger av hva slags oppløsning designet har, etter hvor mye en har redusert.

Oppløsning VI: Alle hoved- og samspillseffekter er ublandet

Oppløsning V: Alle hoved- og 2-faktorsamspill er ublandet

Oppløsning IV: Hovedeffekter er blandet med 3-faktorsamspill og 2-faktorsamspill er sammenblandet med andre 2-faktorsamspill

Oppløsning III: Hovedeffekter er blandet sammen med 2-faktorsamspill

Når to faktorer er sammenblandet med hverandre, kan de ikke bli beregnet separat matematisk.[44]

3.8.1b Hvordan velge design?

- Screeningsdesign: Om man skal undersøke mulige hovedeffekter [44]
- Optimaliseringsforsøk: Om man tror det finnes et optimum.
- Mixed level: Om de ulike variablene skal undersøkes på ulikt antall nivå.
- Mixture design: Om nivået av alle variablene til sammen skal utgjøre noe bestemt.
- D-optimaliserings design: Om det er begrensninger på hvordan variablene kan variere.[45]

Hva for et design man velger er også avhengig av hva man trenger å vite, og hvordan man på forhånd tror at responsen henger sammen med faktorene. Vil man utføre en screening, eller man tror at sammenhengen er lineær, velger man et 2-nivås design, tror man ikke det, trenger man flere nivå. Mistenker man samspill trenger man et design, for det er nødvendig å måle på hva som skjer når faktor A økes ved et nivå av B kontra å øke A ved et annet nivå av B.

Dermed skiller statistisk forsøksplanlegging seg fra vanlig statistikk. Man må ha kunnskap om formuleringer, karakterisering og produksjon av farmasøytiske produkter, og tenke over hva virker fornuftig, og hva man forventer seg [44].

3.8.2 Matematisk modellering

Flere metoder kan benyttes for tolkning av resultat, visualisering og modellering. Dette henger også sammen med hva for et design man har valgt.

3.8.2.a Prinsipalkomponentanalyse

Prinsipalkomponentanalyse (PCA) gir en oversikt over forhold mellom forskjellige variabler og mulighet for å oppdage mønstre, grupperinger, likheter og ulikheter mellom prøvene. Man skiller ikke mellom faktorer og responser. Meningen med all multivariat dataanalyse er å dekomponere dataene, for å oppdage og modellere det ”skjulte fenomenet”. Variansen er veldig viktig, det er en grunnleggende antagelse i multivariat dataanalyse at de underliggende ”retning med maksimum varianse” er mer eller mindre direkte relatert til disse ”skjulte fenomen”[46]. Den første PC vil gå i den retningen maksimal varianse er, hvor spredningen på objektene er størst mulig.

Viktige plott i PCA:

- Scoreplot, der to PC er plottet mot hverandre. Scorevektoren for PC1 (største varians) og PC2 (nest største varians) er de to retningene som forklarer mest varians i

tallmaterialet, og scoreplot brukes for identifisering av uteliggere, trender og grupper, sammenligning av replikater og så videre [46].

- Loadings gir oversikt over intervariable sammenhenger, og viser også hvor mye hver variabel bidrar til hver PC, hver variabel kan også bidra til mer enn en PC. Om variablene er plassert nær hverandre geometrisk i et loadingsplot kovarierer de positivt [47].
- forklart varians for hver enkelt av X, vil gi informasjon om hvilken PC som forklarer en gitt X.

3.8.2.b PLS

Multivariat kalibrering går ut på at man skal relatere to datasett, X og Y [47]. PLS er en projeksjonsmetode, hvor Y-variansen brukes direkte til å finne Y-relevant struktur i X. PLS fokuserer både på Y-variansen og X-variansen, siden man er mest interessert i de kovarierende områdene i disse to områdene [47]. Dette gir en modell som kan brukes til å tolke de ulike effektene faktorenes effekt på Y, samt å predikere nye Y verdier.

Dermed kan modellen benyttes til å predikere gitt respons av valgte variabler, slik at for eksempel en gitt partikkelstørrelse kan oppnås ved gitte parametere i modellen.

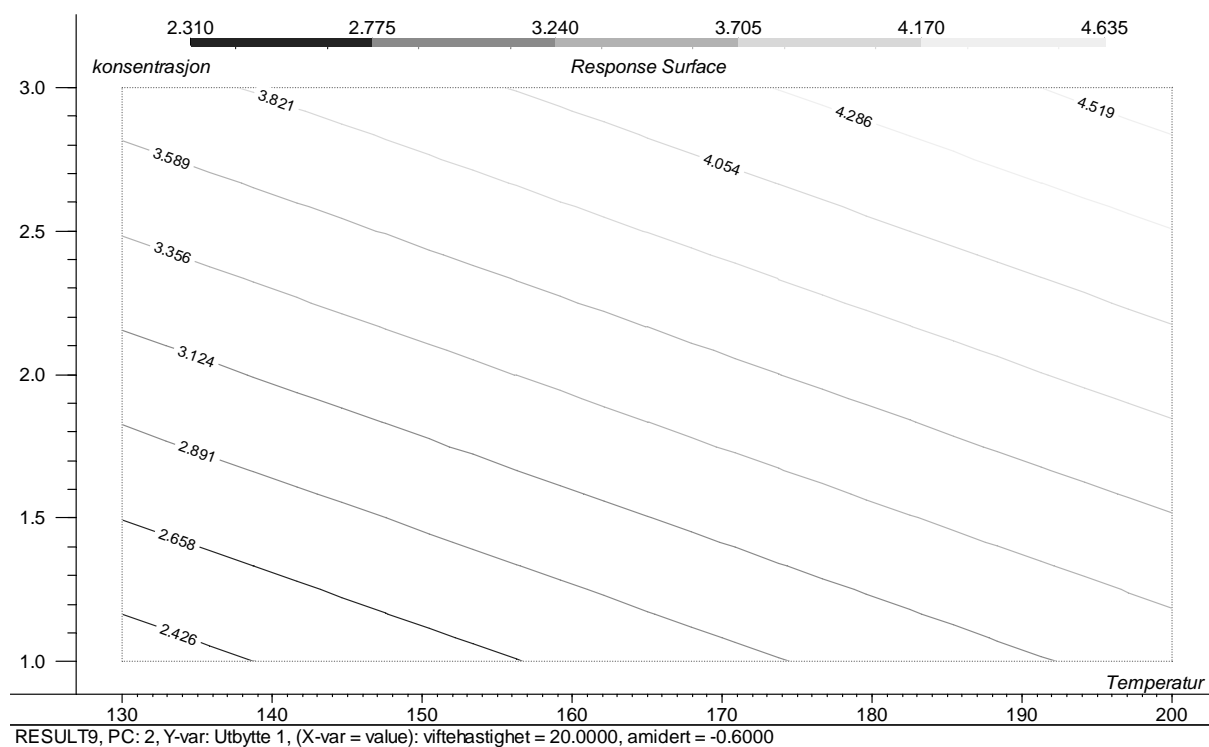
Viktige plott i PLS

- score plot angir vekten til en prøve på en PLS komponent (heretter PC)
- loading som angir bidraget fra en faktor på en PC
- forklart varians, der en kan se hvor mye av variasjonen i data som har blitt forklart av de forskjellige PC-ene
- influence plot for å undersøke innflytelsen en prøve har på modellen, hvor avstand fra linja (standardavviket) og hvor stor innflytelse (leverage) prøven har på modellen vises
- regresjonskoeffisienter med standardavvik, for å se hvilke koeffisienter som har signifikant effekt på responsen

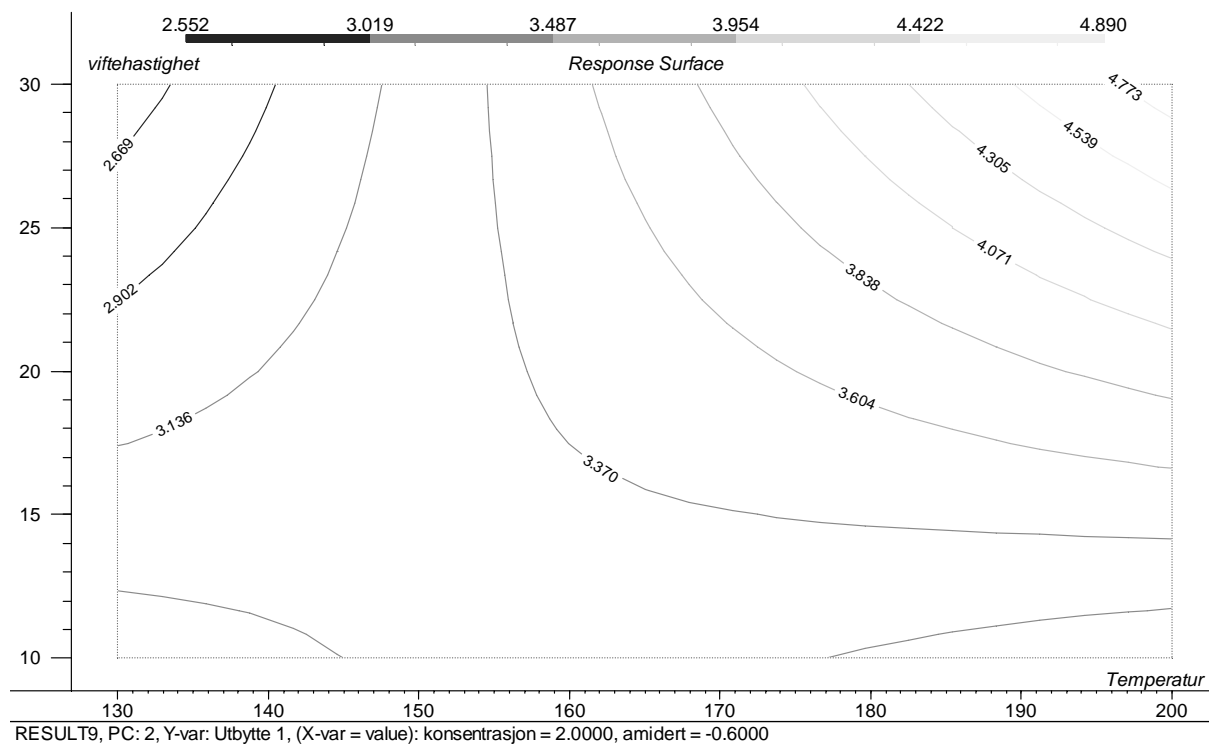
3.8.2.c Samspill

Det er en interaksjon mellom to designvariabler når effekten av den første variabelen avhenger av nivået til den andre. Dette betyr at kombinert effekt av de to variablene ikke er lik summen av hovedeffektene til variablene [44].

En samspillseffekt som øker hovedeffektene kalles en synergi, mens en samspillseffekt som går i motsatt retning kalles en antagonist.



Figur 11: Responsflate uten samspillseffekt mellom konsentrasjon og temperatur



Figur 12: Responsflateplott med samspillseffekter mellom viftehastighet og temperatur

I figur 12 varierer responsen av viftehastighet med nivået på temperatur.

3.8.2.d Kalibrering av spektroskopiske data [48]

Spektroskopiske data og lignende multikanale målinger er ideelle for PLS regresjon.

Spektroskopiske data er ofte veldig kolineære, noe PLS regresjon takler godt.

X-variablene representerer gjerne bølgelengder/bølgetall mens X-data selv ofte er absorpsjon, transmisjon, refleksjon osv. Y-variablen kan være kjemiske konsentrasjoner eller fysiske parametere som størrelse. PLS på spektroskopidata blir oftest brukt for indirekte måling og kalibrering, hvor målet ofte er å erstatte dyre Y-referanse målinger med pålitelige prediksjoner fra raske og relativt billige spektroskopiske målinger (X).

PLS er etablert innenfor NIRS i dag, fordi NIRS ofte krever metoder basert på mange bølgelengder på grunn av nonselektive og fullspektrums bølgelengderesponser.

3.8.2.e Tolkning av spektroskopiske data [48]

2-vektor loadingsplottet gir vanligvis ikke noen mening, X variablene er ofte veldig korrelerte, og dette plottet gir vanligvis ikke noe interessant informasjon. Om Y variabelen også befinner seg i samme plott, vil X variablene bli samlet rundt origo på grunn av skalering.

1-vektor loading-weights plot er ofte veldig nyttig i for eksempel å forstå kjemien i spesielle oppsett. Store loading-weights kan vise bølgelengder hvor det for eksempel er signifikant absorpsjon relatert til Y.

PLS klarer å modellere både strukturer i fullspektrums datasett og data fra filtreringsinstrumenter. Om en reduserer antall bølgelengder ved å bruke kun de som bærer mest informasjon, altså de med høy PLS-ladningsverdier, kan modellen være tryggere og enklere å tolke og prediksjonserror kan reduseres.

4 Materiale og utstyr

4.1 Materiale

4.1.1 Til opprensing av pektin

DM 35	Classic CU 701	Batchnummer: 0050187	Herbstreith & Fox
DM 55	Classic CU 601	Batchnummer: 00604068	Herbstreith & Fox
DM 70	Classic CU 201	Batchnummer: 00412073	Herbstreith & Fox
DA/DM 29	Classic Amid	Batchnummer: 00501034	Herbstreith & Fox
Ethanolum 96 per centum			Arcus
Aceton proanalysy			Merck
Tørris			AGA

4.1.2 Til Mw-bestemmelse

Sodium hexametaphosphate	Prod 10455 2D	BDH analaR®	
Hydrochloric acid fuming 37 % PA		Merck	
DM 35	Classic CU 701	Batchnummer: 0050187	Herbstreith & Fox
DM 55	Classic CU 601	Batchnummer: 00604068	Herbstreith & Fox
DM 70	Classic CU 201	Batchnummer: 00412073	Herbstreith & Fox
DA/DM 29	Classic Amid	Batchnummer: 00501034	Herbstreith & Fox

4.1.3 Til spraytørring

Lactosum monohydricum 0,15 mm		Varenummer311860	Apotekproduksjon AS
DM 35	Classic CU 701	Batchnummer: 0050187	Herbstreith & Fox
DM 55	Classic CU 601	Batchnummer: 00604068	Herbstreith & Fox
DM 70	Classic CU 201	Batchnummer: 00412073	Herbstreith & Fox
DA/DM 29	Classic Amid	Batchnummer: 00501034	Herbstreith & Fox

4.1.4 Til Lasentech® måling

Ethanolum 96 per centum	Arcus
-------------------------	-------

4.1.5 Til NIR-måling

Ethanolum 96 per centum	Arcus
-------------------------	-------

4.1.6 Mikroskopering

Glycerolum 85 per centum	Varenummer 309204	NMD
--------------------------	-------------------	-----

4.2 Utstyr

4.2.1 Opprensing

Sentrifuge IEC, Centra® MPL

Frysetørker Christ Loc-1, alpha 2-4

4.2.2 Molekylvektbestemmelse

Kapillærviskosimeter Micro-Ostwald, 2 ml, app. nr. 918561

nr 51613/lc ned tilbehør som vannbad med sensorer og tidsmåler

4.2.3 Spraytørking

Spraytørker SD-06 labplant

0,5 mm dyse

4.2.4 Partikkelstørrelsesanalyse

Lasentec® D600VL (control interface for FBRM (focused beam reflectance measurement))

Laser Sensor Technology, Inc. USA Part No 814-0140

4.2.5 NIR-målingene

Perkin Elmer Spectrum IdentiCheck FT-NIR system

For tørrstoff (diffus refleksjon)

IdentiCheck Reflectance

For suspensjon (transmisjon)

Kyvette: QX 1.00 mm

4.2.6 Mikroskopfotografering

Nikon Eclipse TE 300 DV Fluorescensmikroskop

5 Metode

5.1 Opprensing

5.1.1 Opprensing

Det ble gjort forsøk for å validere en ny opprensningsmetode, der 7 dagers dialyse [49] skulle erstattes med koking i etanol. I en 80 % etanolløsning vil ikke pektin være løst, og dermed mindre tilgjengelig for hydrolyse.

Endelig metode ble at 24 g pektin ble kokt under omrøring i 200 ml 80 % etanolløsning i 1 time. Pektin er uløselig i etanol, og høy temperatur antas at fører til at oppløsningshastigheten til hydrofile forurensninger ble høyere. Pektin ble filtrert fra, og filtratet ble løst direkte i rensset vann, en 1,5 % w/v løsning, det vil si at 24 g pektin ble løst opp i 1600 ml rensset vann over natt.

Dagen etter ble denne løsningen sentrifugert 4600 rpm i 3 timer, og dette ble gjort for å fjerne hydrofobe (vannuløselige) forurensninger som var igjen i pektinløsningen.

Supernatanten ble frysetørket. Løsningene ble nedfrosset i en 1000 ml rundkolbe under rotering på et bad av aceton og tørris, og tørket i lavt trykk på en frysetørker i minimum 48 timer.

5.2 Molekylvektbestemmelse

5.2.1 Na-hexametaphosphat

20,0 gram Na-hexametaphosphat ble løst i 1800 ml destillert vann i en 2 liters målekolbe. pH ble justert til $4,50 \pm 0,05$ med 37 % HCl. Deretter ble det fylt opp til 2 liter med rensset og ionebyttet vann.

5.2.2 Molekylvektsbestemmelse

Molekylvekten ble bestemt fordi det skulle undersøkes om det var stor forskjell i molekylvekt mellom de ulike pektintypene.

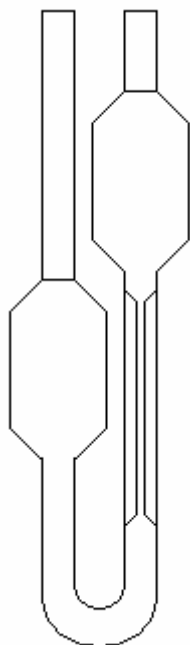
Det ble laget ulike pektinløsninger i Na-hexametaphosphat. Det ble benyttet et Micro-Ostwald viskosimeter med tilbehør som vannbad med sensorer og tidsmåler.

Tabell 3: Oversikt over konsentrasjoner til molekylvektbestemmelse i Na-hexametaphosphatløsning

Pektintype	Konsentrasjoner				
DM 70	0,05 %	0,10 %	0,15 %	0,20 %	0,25 %
DM 50	0,05 %	0,10 %	0,15 %	0,20 %	0,25 %
DM 35	0,0125 %	0,025 %	0,0375 %	0,050 %	0,065 %
DM/DA	0,05 %	0,10 %	0,15 %	0,20 %	0,25 %

Tiden løsningen trengte for å renne mellom to punkter på kapillæret ble målt 4 ganger, ved 20 °C, og kapillæret sto i vannbadet i 5 minutter før måling for å få rett måletemperatur.

Hver gang en måling ble foretatt, ble det tilsatt 2 ml av den aktuelle løsningen til det tykkeste røret i kapillæret. Utrenningstiden for rent løsemiddel ble først bestemt. Deretter ble det målt på de ulike pektinløsningene. Pektinkonsentrasjonene var tidligere bestemt på bakgrunn av at forholdet mellom utrenningstiden til den høyeste pektinkonsentrasjonen og rent løsemiddel skal være mellom 3 og 4. Pektinløsningene ble målt fra lav mot høy konsentrasjon for å eliminere behovet for vask av kapillærviskosimeteret mellom hver prøve.



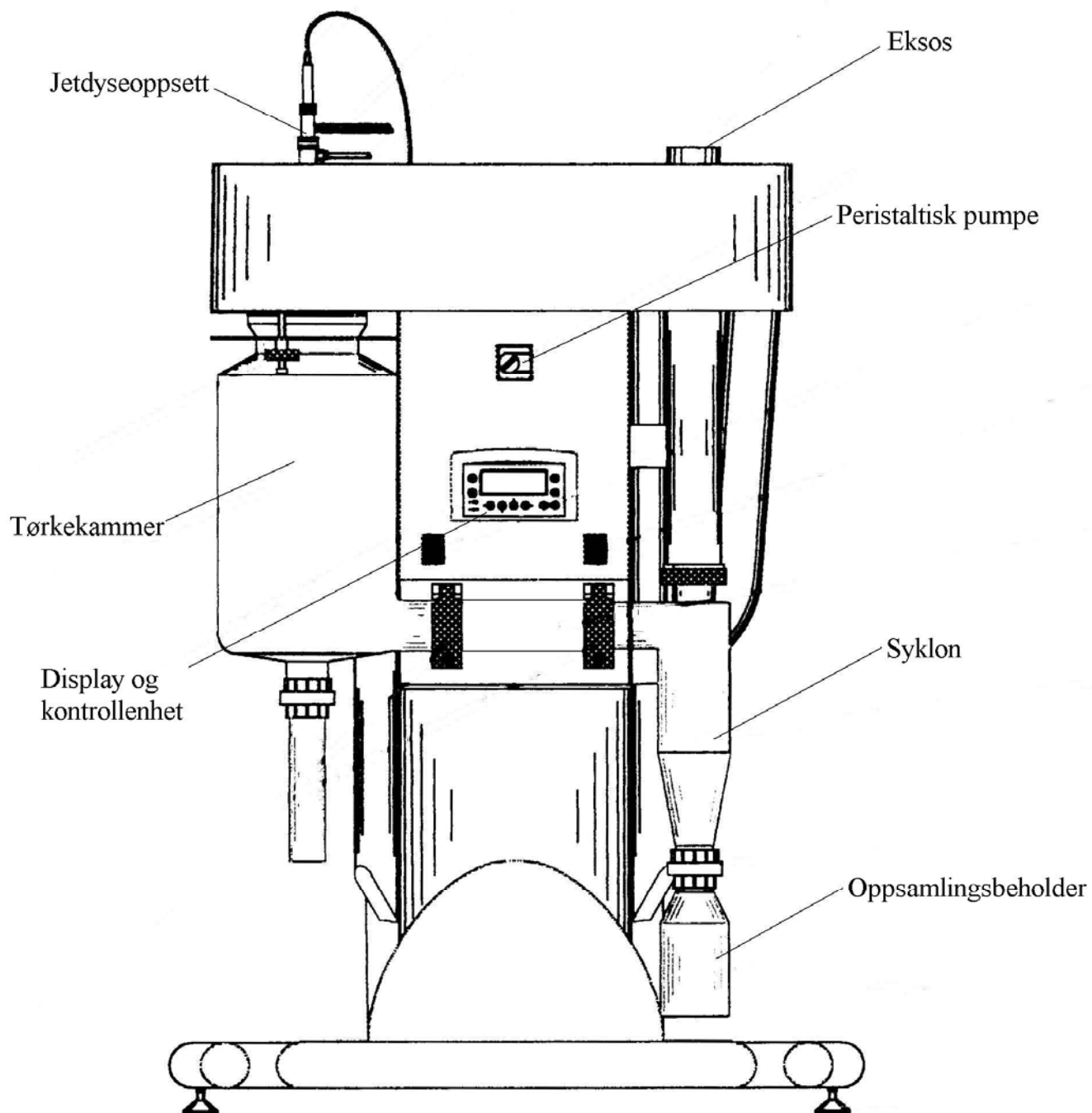
Figur 13: Skisse av et Micro-Ostwald kapillærviskosimeter

Konstantene som ble benyttet for å regne ut molekylvekten vha Mark-Houwink ligningen var $K = 4,7 \cdot 10^{-5}$ og $\alpha = 1$ når konsentrasjonen er oppgitt i g/100 ml [33].

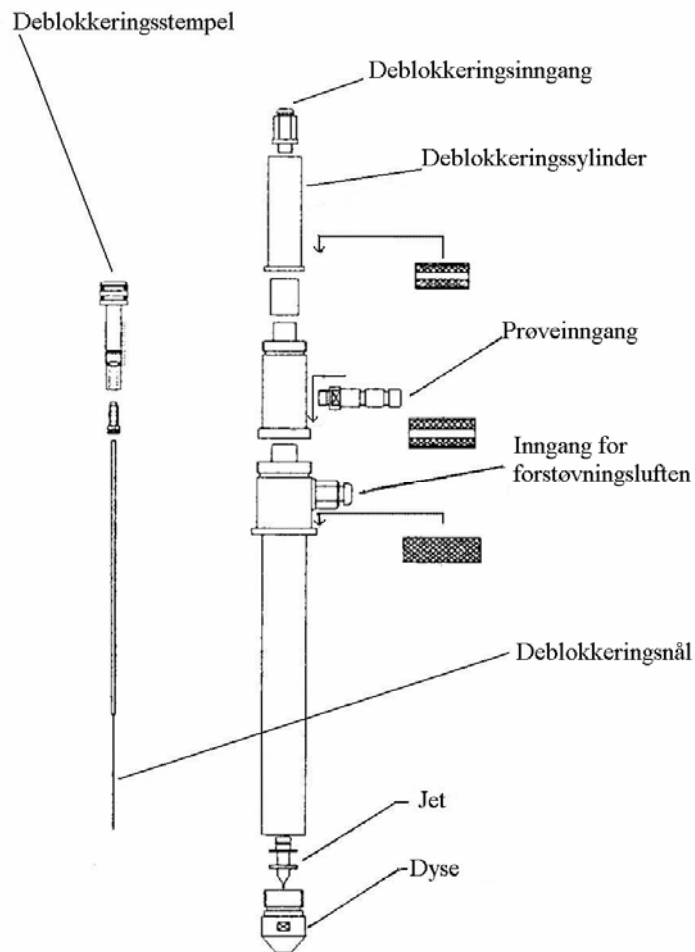
Hugginskonstant ble beregnet.

Usikkerheten ble bestemt ved hjelp av Standard Error of Estimate (SEE) for skjæringspunktet (b), der $2 \cdot \text{SEE}$ ble benyttet ved beregning.

5.3 Spraytørkeren



Figur 14: SD-06 laboratory scale spray drier [27]



Figur 15: Jetoppsettet [27]

5.3.1 Prosessparameterne

LabPlant SD-06 benyttes.

Prosessparametrene som kan endres der er:

Temperatur	1-250 °C der laveste temperatur er romtemperatur
Pumpehastighet	1-50 (125-2115 ml/time vann $\pm 10\%$) [50]
Viftehastighet	1-50 (2,3-4,3 m/s) [51]
Deblokkerings hastighet	Slow-medium-high (10, 20 og 60 ganger/minutt)
Dysestørrelse:	0,5 mm og 2,0 mm

5.3.2 Innledende forsøk

Hensikten med forsøket var å bli kjent med spraytørkeren og effekt og begrensninger av variasjonen på prosessparameterne.

Laktose ble oppløst i rensset vann i konsentrasjoner på 1, 5 og 10 w/w %. Disse ble spraytørket med en 0,5 mm dyse. Temperaturen ble satt til 250 °C, viftehastigheten ble satt til 50 og pumpehastigheten ble variert.

5.4 Spraytørking av vann

Vann ble observert i oppsamlingsbeholderen etter de innledende forsøkene. En forsøksserie basert på visuell kontroll av beholderen ble utført, basert på å undersøke kombinasjoner av pumpe- og viftehastighet ved en gitt temperatur.

5.4.1 Oppsett for spraytørket vann

En gitt temperatur holdes konstant. Viftehastigheten ble startet på laveste nivå (1). Pumpehastigheten ble også startet på laveste nivå (1), og økt kontinuerlig med omtrent 10 minutters mellomrom.

Da kondens ble visuelt observert på innsiden av oppsamlingsbeholderen, ble pumpehastigheten notert og systemet ble kjørt uten pumpe for å fordampe fuktigheten. Deretter ble viftehastigheten økt til neste nivå (5), og kontinuerlig økning av pumpehastigheten ble gjort til ny observasjon av fuktighet. Dette ble gjentatt for totalt 3 forskjellige temperaturer (130, 190 og 250 °C), elleve viftehastigheter (1-50).

5.5 Laktoseforsøk

5.5.1 Spraytørking av uoppløst laktose

Etter laktose ble tilsatt i vann, tok det tid før laktosepartiklene gikk i oppløsning ved romtemperatur. Dette ble utnyttet for å prøve ut spraytørking av suspensjon med aktuelt oppsett. Det ble lagd en 1 % w/w laktosesuspensjon i rensset og ionebyttet vann. Umiddelbart etter tilsetning av laktose, ble suspensjonen spraytørket under omrøring.

5.5.2 Spraytørking av laktoseløsning

5.5.2.a Konsentrasjonens påvirkning på avsetning i syklonen og produkttap med eksos

Alle løsninger lages med rensset og ionebyttet vann, og løses under omrøring.

Det ble undersøkt med laktoseløsninger på 1 %, 5 %, 10 % og 20 % w/w.

Mengde avsetning i syklonen ble visuelt observert, både høyden og tykkelsen på avsetningen ble observert. Dette var gjennomførbart siden eksosslangen ikke var koblet til avtrekk, men ble lagt ut av vinduet.

Tabell 4: Oppsett for spraytørring av laktose for undersøkelse av konsentrasjonens påvirkning på avsetning i syklonen.

Konsentrasjon	Temperatur	Pumpehastighet	Viftehastighet
1 % w/w	250 °C	5	5
5 % w/w	250 °C	5	5
10 % w/w	250 °C	5	5
20 % w/w	250 °C	5	5

Laktose 10 % w/w løsning i rensert vann ble spraytørket ved pumpehastighet 5 og 250 °C.

Viftehastigheten ble gradvis økt, og mengden avsatt produkt ble visuelt observert.

Tabell 5: Oppsett for spraytørring av laktose for undersøkelse av viftehastighetens påvirkning på produkttap i eksosen.

Konsentrasjon	Temperatur	Pumpehastighet	Viftehastighet
10 % w/w	250 °C	5	10
10 % w/w	250 °C	5	20
10 % w/w	250 °C	5	30
10 % w/w	250 °C	5	40

5.6 Pektin

Siden spraytørring er en velegnet metode for termolabile stoffer [20], burde denne passe for pektin.

5.6.1 Valg av pektintyper

Det ble bestemt at én produsent skulle benyttes, Herbstreith & Fox (H&F). DM 4 og DM 10 er dårlig løselig i vann. Siden forsøkene med laktosesuspensjonen var problematisk, ble det bestemt at forsøksserien skulle foregå på pektin i løsning. Det var også viktig å rense opp

tilstrekkelig med pektin, noe som er vanskelig når den må sentrifugeres for å fjerne hydrofobiske forurensninger (se 5.1.1).

Tabell 6: *Oversikt over pektintyper i forsøket*

Pektintyper
DM 70
DM 50
DM 35
DA

5.6.2 Forforsøk - spraytørking av pektin

Forforsøk med pektin ble gjennomført med urensset DM 70 pektin ble løst opp i renset vann. Pektin DM 70 ble valgt fordi det på dette tidspunktet bare var tilgjengelig to typer pektin i laboratoriet, DM 35 og DM 70. Erfaring tilsa at DM 70 var lettere å jobbe med enn DM 35.

DM 70 ble spraytørket ved 130 °C

Pumpehastigheten og viftehastigheten ble variert.

5.7 Hovedforsøk spraytørking

5.7.1 Oppsett design

Det ble bestemt å lage et oppsett for et redusert faktorforsøk, siden eksperimentene er veldig tidskrevende. Designet skulle omfatte seks forskjellige faktorer, temperatur (130-200 C°), konsentrasjon (10-30 g/L), pumpehastighet (1-5 tilsvarende 125-280 ml/time), viftehastighet (10-30 tilsvarende 2,7-3,5 m/s), metoksyleringsgrad på pektin og kategorisk variabel, amidert pektin eller ikke. Dysestørrelse og debløkkeringshastighet ble holdt konstant.

Det var ikke mulig å lage et tradisjonelt redusert faktorforsøk siden én av variablene, metoksyleringsgrad, hadde 4 nivå. Designet ble laget i Modde 5.0 Umetrics. Designet ble lagt opp for å gi optimal kombinasjon av mulige forsøk, men fokus på symmetri og høyest oppløsning. Det ble også lagt til rette for identifikasjon av samspill.

Senterpunkt ble ikke tatt med i designet siden det også omfatter en kategorisk variabel.

Tabell 7: Design for spraytøking

Eksperimentnavn	Temperatur	Konsentrasjon	Pumpehastighet	Viftehastighet	Metoksylering	Amidering
1	130	1	1	10	70	Nei
18	130	1	1	30	29	Ja
8	130	1	5	10	35	Nei
2	130	1	5	30	70	Nei
13	130	1	5	30	50	Nei
15	130	3	1	10	35	Nei
17	130	3	1	30	50	Nei
12	130	3	1	30	70	Nei
3	130	3	5	10	70	Nei
9	130	3	5	30	29	Ja
5	200	1	1	10	35	Nei
14	200	1	1	10	50	Nei
20	200	1	1	30	70	Nei
11	200	1	5	10	29	Ja
16	200	1	5	30	35	Nei
10	200	3	1	10	29	Ja
6	200	3	1	30	35	Nei
4	200	3	5	10	35	Nei
19	200	3	5	10	50	Nei
7	200	3	5	30	70	Nei

Etter opprensing ble pektinet spraytørket som i designet. Flak som kom ned i oppsamlingsbeholderen ble fjernet med pinsett. Utbyttet ble notert.

5.8 NIRS

NIRS målingene ble utført med diffus refleksjon og transmisjon.

5.8.1 Diffus refleksjon

Siden instrumentet var et enkeltstråleinstrument, var det nødvendig å ta opp bakgrunnsspekter mellom hver prøve. Det ble ikke veid ut noen spesifikk masse av prøven for måling på tørrstoff, siden det er tykkelsen på laget som er viktig. Det ble derfor fylt prøve i ≥ 1 cm tykkelse, for å hindre at strålingen gikk gjennom prøven. Det er for å sikre at refleksjonen ble så bra som mulig, at man ikke får falsk lav refleksjon (at noe av strålingen går gjennom prøven uten å bli reflektert).

Spektrofotometeret ble innstilt på å ta opp 32 scatter per prøve, og 64 scatter på bakgrunn, hvor et scatter er et kontinuerlig spekter. Det ble gjort 3 målereplikater per prøve, og prøven ble forsiktig ristet og rotert mellom hver måling.

5.8.2 Reproduserbarhet

For å kontrollere reproduserbarheten i instrumentet ble det utført 3 målereplikater på én tilfeldig valgt prøve ved starten, midten og slutten av NIRS målingen.

5.8.3 Transmisjon

Et annet prinsipp ble brukt for måling av transmisjon, hvor det ble laget en suspensjon av pektinmikrosfærene i etanol.

Det ble prøvd ut flere konsentrasjoner for å få passende transmisjon, og passende konsentrasjon på suspensjonen ble funnet til å være 0,5 mg/ml, valgt på grunnlag av mengden transmisjon.

En etanolsuspensjon ble tillaget umiddelbart før målingen. Det ble utført to målereplikater på hver prøve. Kyvetten ble tatt ut av instrumentet, og vendt opp ned 3 ganger mellom hvert målereplikat.

5.8.4 Reproduserbarhet

Det ble gjennomført målereplikater på samme prøve, start, midt, neste dag og to målereplikater på slutten av forsøket.

5.9 Størrelsesmåling ved Lasentec®

5.9.1 Oppsett

Lasentec®-måling skjer ved å stikke en probe ned i en suspensjon, som er under omrøring. Dette fører til at partiklene ikke sedimenterer og flest mulig av partiklene blir tilgjengelig for måling av størrelsesfordeling.

Prøven skal suspenderes i en væske som den ikke er løselig i.

Programvaren kan innstilles for å gi forskjellige mål på størrelse som gjennomsnitt og median.

5.9.2 Måling

200 mg av prøven ble suspendert i 70 ml sprit i et begerglass. Proben og røreverket ble satt ned i begerglasset.

Suspensjonen ble målt under kraftig omrøring. Apparaturen ble innstilt på at én måling skulle ta 30 sekund, og det skulle måles 10 paralleller. Målingene ble foretatt kontinuerlig.

Det ble bestemt at relevante mål på størrelsen var gjennomsnitt, c25, median, c75 og IQCS.

Det ble beregnet et gjennomsnitt og standardavvik på disse målene for hver prøve.

5.10 Modellering på størrelse og utbytte

Det var ønskelig å modellere på dataene for å se en sammenheng mellom prosessparameterne og utbyttet av hver prøve i tillegg til størrelse. Dette er relevant siden opprensing av pektin er tidkrevende arbeid.

5.10.1 Modellering på prosessfaktorene, utbytte og størrelsesmål

For å identifisere signifikante faktorer og samspill ble det utført to PLS 1 analyser, én på prosessfaktorer og utbytte, og én på prosessfaktorer og størrelse. Prosessparameterne ble satt til å være X mens utbyttet/størrelse var Y. Alle dataene ble sentrert og vektet $1/STDev$. Samspillsledd ble også tatt med i PLS 1 analysen, og den ble kjørt med full kryssvalidering og uncertainty test. Alle PC-ene ble tatt med i starten modelleringen. En samspillseffekt ble fjernet før modellering, og det var metoksyleringsgrad · amidering. Amideringsgrad er ikke uavhengig av metoksyleringsgrad, og disse variablene utgjør egentlig en blandingssituasjon. Modellen ble forenklet, ved å ta bort ett eller to av de leddene som hadde minst utslag og hadde størst relativ usikkerhet. Loadingsplottet ble sjekket for å identifisere korrelerende variabler, altså variabler som ligger veldig nær hverandre i loadingsplottet. Influenceplot ble også sjekket mellom hver forenkling av modellen for uteliggeridentifisering, og det ble utført modelleringer både med og uten mistenkte uteliggere.

5.10.2 PCA på størrelsesmål

For å identifisere forhold mellom de forskjellige variablene og for å finne grupperinger og likheter og forskjeller mellom prøvene ble det gjennomført en PCA på størrelsesmålene. Alle variablene ble vektet $1/STDev$ før modellering og validert med full kryssvalidering. Forklart

varians plottet ble undersøkt for å finne hvilken PC som forklarte de ulike variablene. Det ble også gjennomført en PCA på kun størrelsesmål på samme måte

5.10.3 Modellering på spektroskopi

Her ble det også gjennomført en PLS 1 analyse for å finne signifikante faktorer. Spektraene ble baselinjekorrigert, og et gjennomsnitt av refleksjonsverdiene og absorpsjonsverdiene ble beregnet. Spektra ble satt til X og størrelse ble satt til Y. Her ble ikke de spektroskopiske dataene vektet, mens Y ble vektet $1/STDev$.

Modelleringen ble foretatt på 15 PC med full kryssvalidering og uncertainty test. Modellen ble forenklet ved å fjerne de β -koeffisientene som lå i et område med ingen signifikante koeffisienter. Dette ble gjentatt til det kun skulle være signifikante effekter igjen.

Influenceplottet ble kontrollert mellom hver forenkling av modellen.

Det ble også foretatt en blokkvalidering på signifikant modell, 5 blokker á 4 prøver.

5.11 Mikroskopfotografering av mikrosfærene

Mikroskoperingen ble utført med 40 gangers forstørrelse. Bildene ble tatt med Bright Field, og tatt fra undersiden av prøven. Det ble forsøkt med forskjellige lystyper, også fasekontrast, men mest informasjon kom fram med Bright Field.

Prøvene ble tillaget ved å legge litt prøve på et glass, og fuktemiddelet ble dryppet direkte på prøven. Suspensjonen ble forsiktig strøket ut over glasset for å fordele partiklene utover. Objektglass ble så lagt på toppen av suspensjonen.

Det ble prøvd ut flere fuktemidler. For å ta bilde av partiklene er det viktig at de ikke er løselige i fuktemiddelet.

5.11.1 Valg av fuktemiddel

Mikrosfærene ble først undersøkt på 40 ganger forstørrelse i et Leica fasekontrast stereomikroskop. Det ble også forsøkt med oljeimmersjon for å kunne forstørre 100 ganger. Da immersjonsoljen ble dryppet direkte på partiklene, var det et problem at luftlag ble fanget rundt partiklene, og skapte forstyrrelser i bildet.

Det var behov for et fuktemiddel, og det ble først forsøkt med etanol. Det var lett å fordele mikrosfærene i sprit på prøveglasset. Dekkglasset ble lagt på toppen, og objektglasset ble lagt på mikroskopet. Med etanol var problemet stort med kapillærkrefter som trekker væsken ut mot kantene av dekkglasset. Resultatet ble at partiklene ikke lå i ro, noe som er nødvendig for gode bilder, men beveget seg med relativt høy hastighet.

Det ble derfor prøvd med et fuktemiddel med høyere viskositet og mindre problemer med fordamping. Partiklene ble suspendert i 85 % glyserol. Her var problemet mye mindre, og det var mulig å finne områder hvor partiklene lå helt i ro.

Bildene ble tatt ved 40 x forstørrelse i Nikon fluorescensmikroskop.

6 Resultat

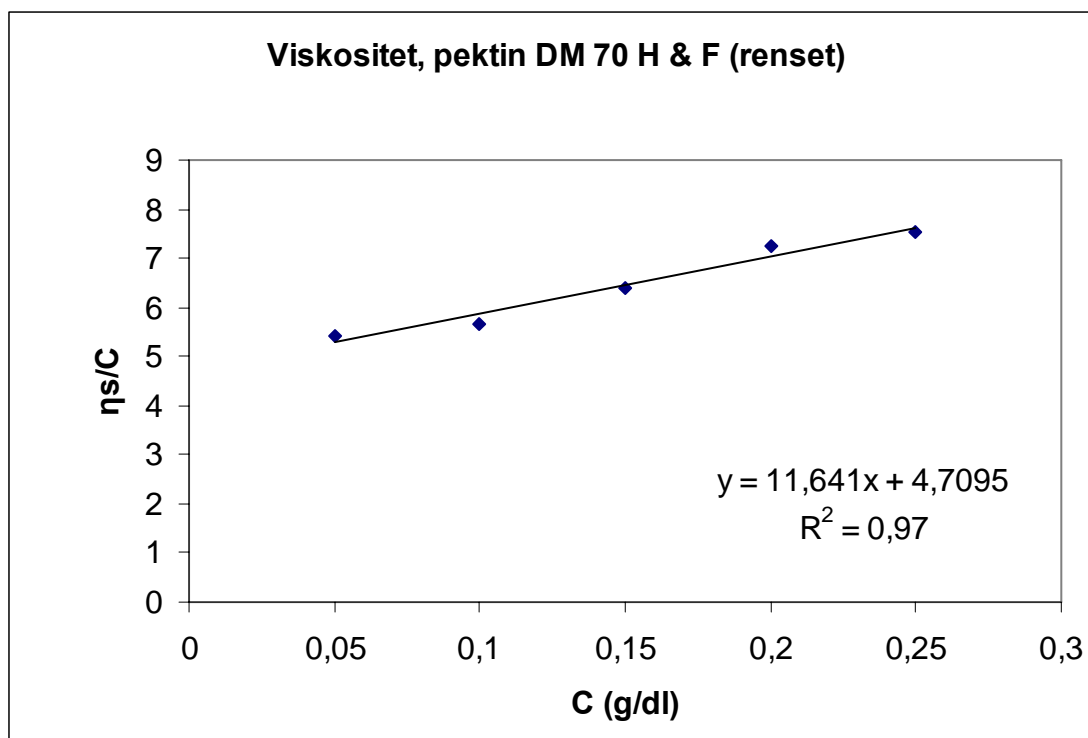
6.1 Molekylvektbestemmelse

Pektin er et naturprodukt og vil derfor kunne ha varierende molekylstørrelse, både innenfor og mellom batcher.

6.1.1 70 DM pektin

De ulike viskositeten til de ulike konsentrasjonene i tabell 3 i kapittel 5.2.2 ble undersøkt.

Ved å plote η_s/C mot C , ble pektinets molekylvekt bestemt



Figur 16: Redusert viskositet plottet mot konsentrasjon for DM 70 pektin

Molekylvektstørrelsen ble beregnet som beskrevet i 3.5.1

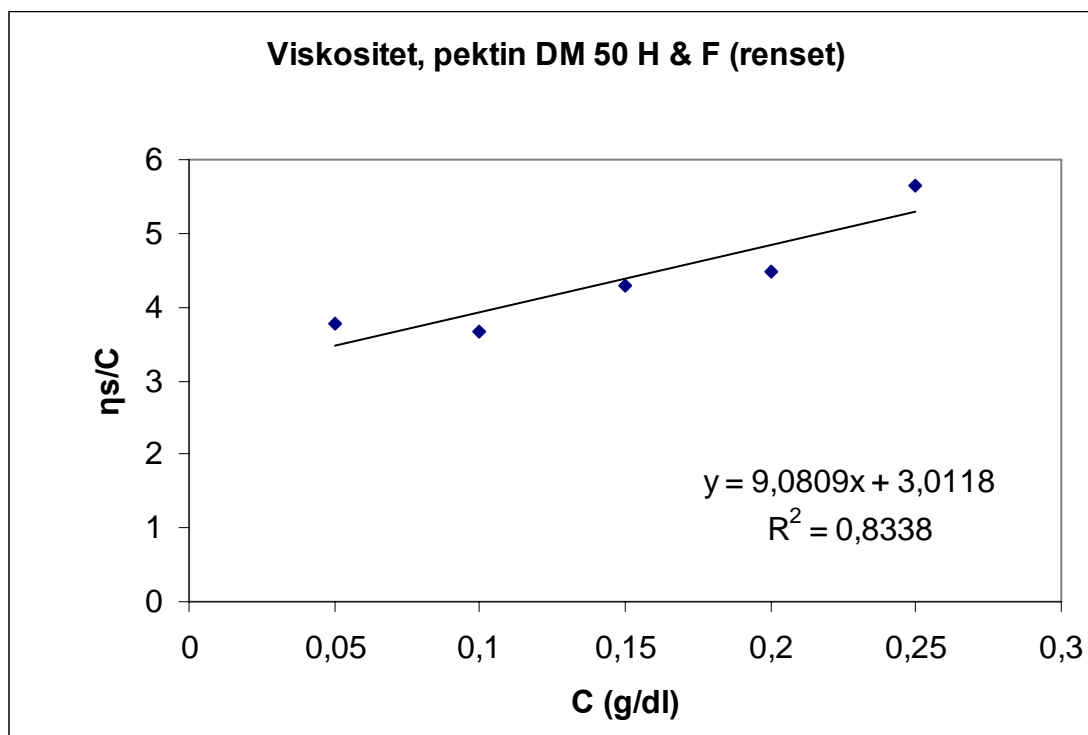
$$\text{Molekylvektstørrelse, } M_w = \frac{4,7094}{4,7 \cdot 10^{-5}} \approx 100200 \text{ Da med en usikkerhet på } 9570 \text{ Da}$$

Hugginskonstanten ble beregnet som beskrevet i 3.5.1

$$\text{Hugginskonstant: } y = \frac{11,641}{4,7094^2} \approx 0,52$$

Løsemiddelet ga en Hugginskonstant på 0,52, noe som betyr at det er omtrent like mye tiltrekning som frastøtning i systemet.

6.1.2 50 DM pektin



Figur 17: Redusert viskositet plottet mot konsentrasjon for DM 50 pektin

Tilpasningen av kurven er ikke veldig god, dette kan ha noe å gjøre med at viskosimeteret ikke ble vasket og tørket mellom hver måling.

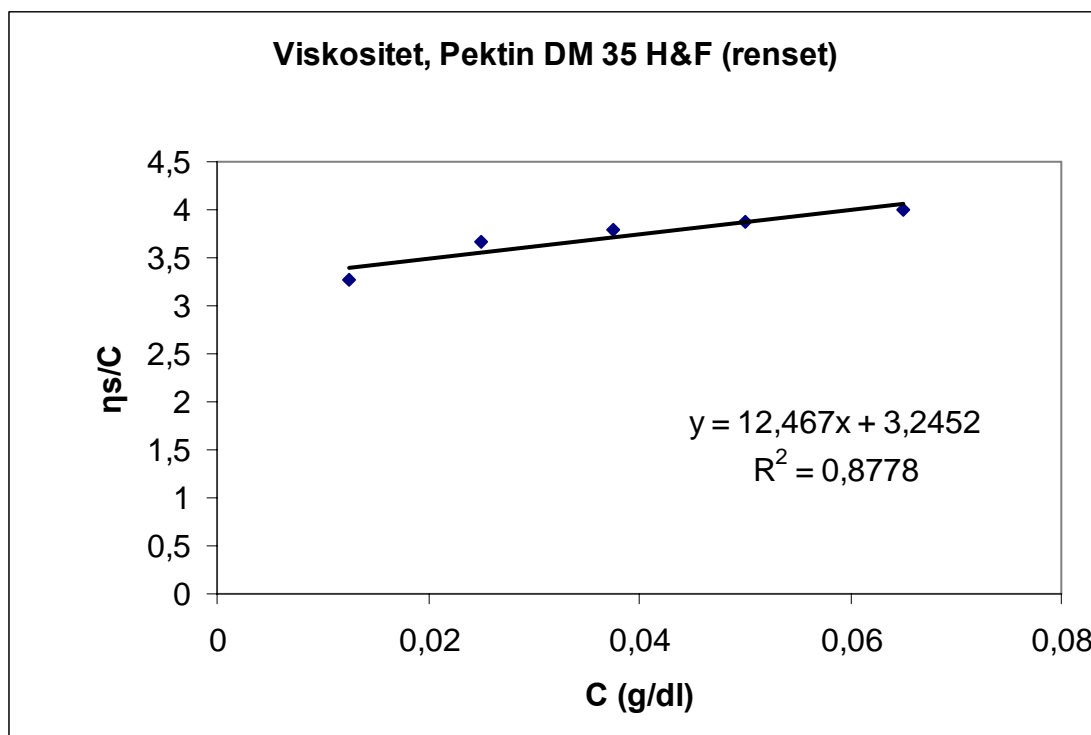
Mw ble beregnet på samme måte som for DM 70

Molekylvekt: 64100 Da med en usikkerhet på 16600 Da

Hugginskonstant: 1,00

En Hugginskonstant på ≥ 1 betyr at molekylene ligger utstrekt i løsningen.

6.1.3 35 DM pektin



Figur 18: Redusert viskositet plottet mot konsentrasjon for DM 35 pektin

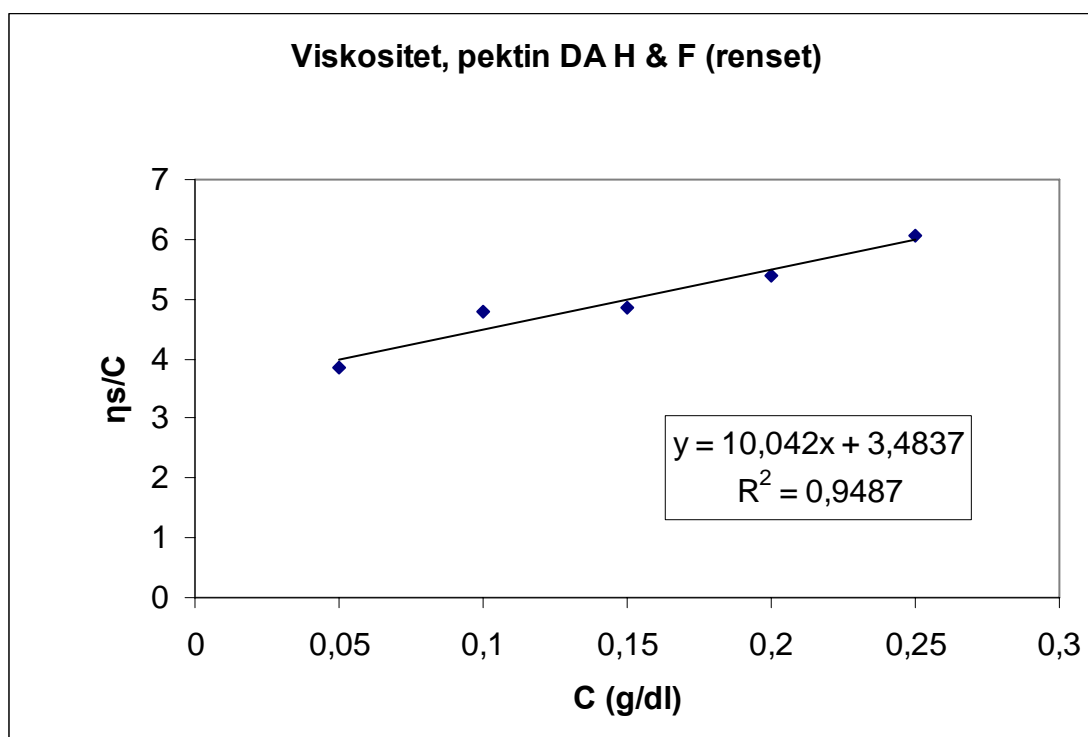
Tilpasningen av kurven er ikke veldig god, dette kan ha noe å gjøre med at viskosimeteret ikke ble vasket og tørket mellom hver måling. I tillegg er konsentrasjonen så lav at aggregering og adsorpsjon på glass vil få mye å si.

Hugginskonstant: 1,18

Molekylvekt: 69000 Da med en usikkerhet på 4680 Da

Ifølge Hugginskonstanten ligger molekylene utstrekt i denne løsningen

6.1.4 29 DA pektin



Figur 19: Redusert viskositet plottet mot konsentrasjon DA pektin

Molekylvekten ble beregnet på samme måte som for DM 70

Molekylvekt: 74100 Da med en usikkerhet på 9580 Da

Hugginskonstant: 0,90

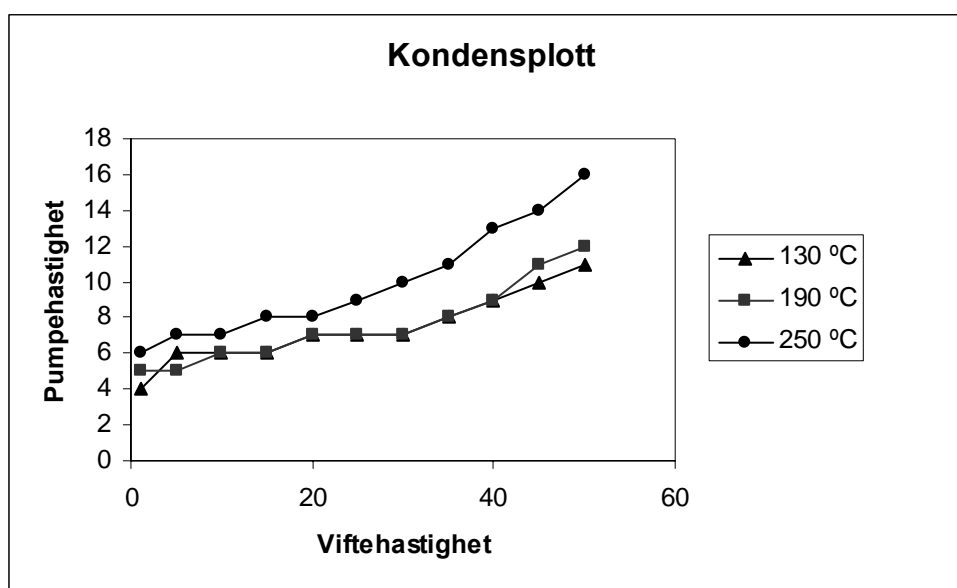
En Hugginskonstant på 0,90 sier at molekylene er ganske utstrekte.

6.2 Resultat av forforsøk

De første forsøkene med laktose viste at det var problemer med akkumulering av stoff i syklonen. Produsenten anbefaler i så fall å endre viftehastighet, kompressortrykket eller til en annen dysestørrelse [27]. I tillegg ble en del fuktighet i oppsamlingsbeholderen observert. Etter kontakt med produsent ble det ikke anbefalt å endre kompressortrykket og da også forstøvningsluftstrømmen, da dette kunne påvirke deblukkeringsfunksjonen [52].

6.2.1 Resultat av spraytørring av vann

Ut fra resultatene (side 74 i vedlegg) ble det klart at det er en fordel med høy viftehastighet for å motvirke kondens i oppsamlingsbeholderen, mens høy pumpehastighet bidrar til problemet. Temperaturen så ut til å ha en liten effekt, men høyere temperatur fører til mindre kondens i oppsamlingsbeholderen.



Figur 20: Plott av viftehastighet mot pumpehastighet ved 3 forskjellige temperaturer. Området under grafen er kombinasjoner av parameterne som ikke vil gi kondensering i oppsamlingsbeholderen

6.2.2 Spraytørring av suspensjon

Spraytørring av suspensjon i dette oppsettet var ikke gjennomførbart. Det faste stoffet sedimenterte i slangen, og ble ikke spraytørket som en homogen suspensjon. Dette var spesielt et problem der slangen gikk gjennom den peristaltiske pumpen.

På grunnlag av dette ble kun vannløselige pektintyper tatt med i hovedforsøket.

6.2.3. Konsentrasjonens påvirkning på avsetning i syklonen og tap med eksosen

Ved visuell analyse av syklonen, ble resultatet at avsetningen i syklonen øker med konsentrasjonen på væsken som spraytørkes. Avsetning i syklonen økte i tillegg med viftehastighet og pumpehastighet.

Økt pumpehastighet fører til økt avsetning i syklonen, mens tap av spraytørket produkt i eksosen varierer positivt med viftehastigheten. Når det gjelder tap av produkt i eksosen kan dette ha mye å si på partikkelstørrelsesfordelingen i produktet i oppsamlingsbeholderen. Dette er fordi de letteste partiklene følger med eksosen [27].

6.2.4 Pektin

Spraytørking ved pumpehastighet ≥ 5 ga mye avsetning av pektinløsningen på veggene i tørkekammeret. Dette laget var sprøtt og skjørt, og det løsnet flak, som ble dratt gjennom systemet og kom ned i produktet. Derfor ble pumpehastigheten satt til å være 1 (125 ml/time) og 5 (280 ml/time), sett i sammenheng med kondensresultatene. Produsenten [27] oppgir at optimal pumpehastighet er når ingen fukting skjer på veggene i tørkekammeret. Men dette var et problem selv ved laveste pumpehastighet.

Konsentrasjonen ble satt til å variere fra 1-3 % w/v pektin i renset vann.

Temperatur ble valgt ut fra litteraturen. Temperaturen bør være så høy som mulig for å få best mulig tørkeprosess [27], men lav nok til å ikke ødelegge pektin (se kapittel 3.2.3), og ble derfor satt til å være 130 °C [12, 25] og 200 °C [29]. Uttemperaturen kan ikke stilles inn, men avhenger av inntemperaturen. Ved 130 °C lå uttemperaturen på omtrent 80 °C og ved 200 °C lå uttemperaturen på omtrent 100 °C. Uttemperaturen er viktig sammen med viftehastigheten, for å hindre kondensering av vann i systemet.

Viftehastigheten hadde mye å si for tap av stoff i eksosen, og viftehastighet > 30 førte til relativt stort tap. Videre ble det fastslått under kondensforsøkene, at ved en temperatur på 190 °C bør viftehastigheten være ≥ 10 .

Da intervallet for viftehastighet ble bestemt, ble det tatt hensyn til både fuktighetsproblemene i oppsamlingsbeholderen, og at akkumulering ble større, og forventet utbytte lavere ved høy viftehastighet. Derfor ble intervallet satt til 10-30.

Dysetørrelsen som var best egnet var 0,5 mm. Det var større problem med fukting av veggene i tørkekammeret med 2,0 mm dysen, i tillegg til at deblokkeringsnålen ikke var like effektiv i denne dysen. Deblokkeringsnålen passer godt i åpningen til 0,5 mm dysen, mens nålen ble for liten for åpningen i 2,0 mm dysen. Pektin ble avlagt på kanten av dysen, noe som påvirket spraymønsteret.

Både forstøvningsluften og deblokkeringsfunksjonen deler samme kompressor [27]. Det ble observert en endring i sprayformen hver gang deblokkeringsnålen gikk gjennom dysen. En stor del av trykklufta som ellers ble brukt til forstøve luftstrømmen, ble brukt til å presse ned deblokkeringsnålen. Da pumpehastigheten var konstant, ble samme mengde løsning pumpet inn i forstøveren, med lavere trykk på forstøvningsluften. Det ble derfor bestemt at deblokkeringshastigheten skulle holdes lavest mulig, altså slow, noe også produsenten konkluderte med [50].

På bakgrunn av forforsøkene ble parameterne bestemt til å være:

- Temperatur: 130-200 °C
- Konsentrasjon: 1-3 % w/v
- Pumpehastighet: 1-5
- Viftehastighet: 10-30
- Deblokkeringshastighet: Slow
- Metoksyleringsgrad, 35, 50, 70, (29 i DA)
- Amidering (kategorisk variabel)

6.3 Utbytte

Designet fra tabell 7 i kapittel 5.7.1 ble fulgt.

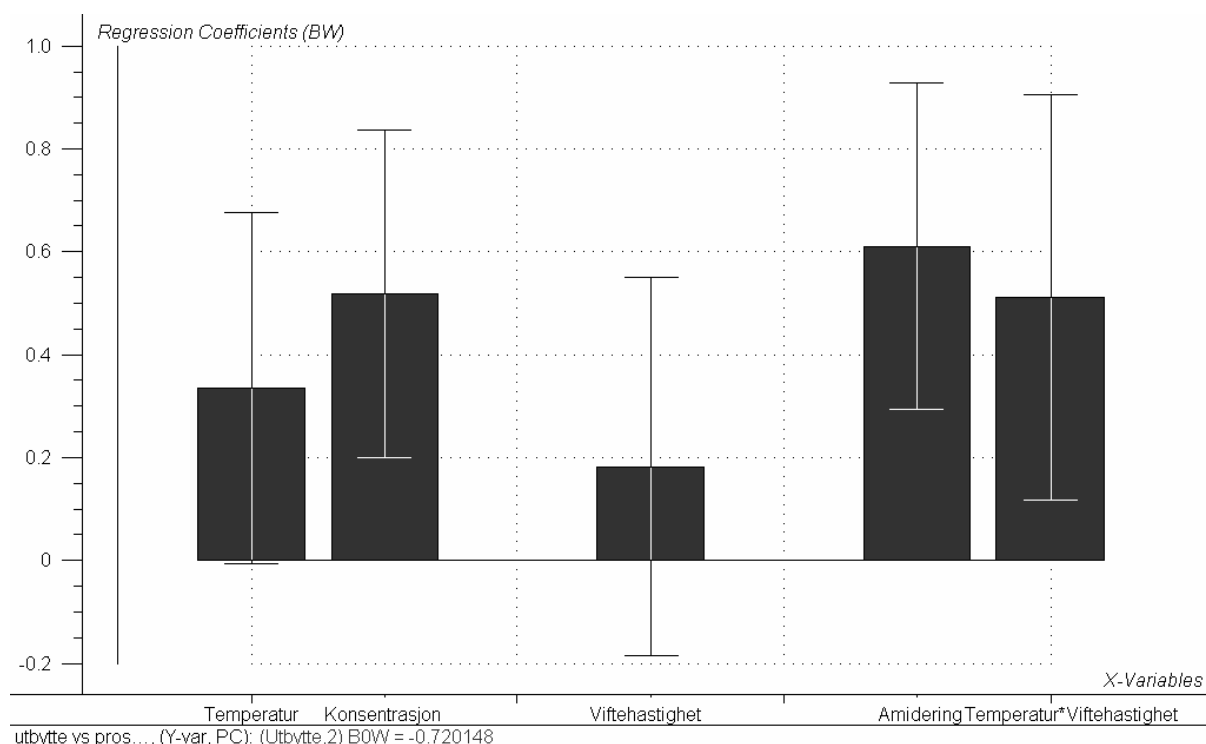
6.3.1 Utbytte

Etter spraytørkingen ble hver prøve veid og utbyttet beregnet.

Henviser til vedlegg side 82 for fullstendig tabell.

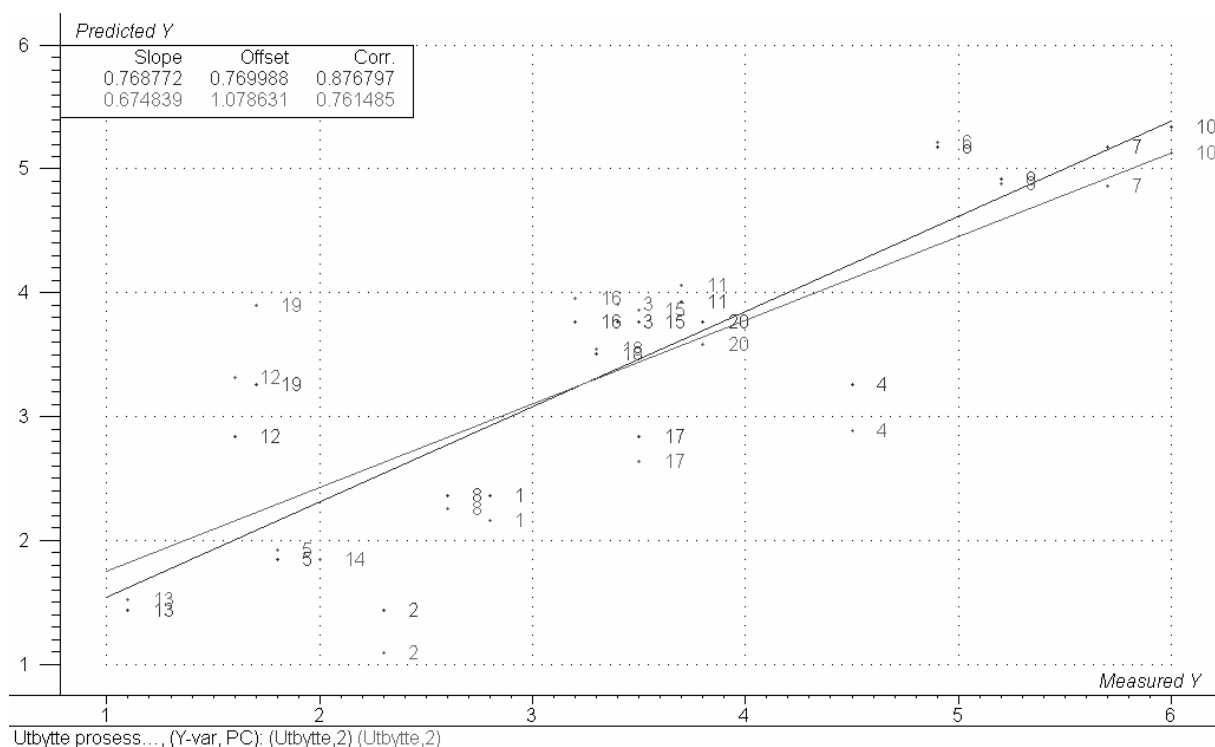
6.3.2 PLS 1 modellering på prosessfaktorene og utbytte

Det ble utført en PLS 1 regresjon på prosessvariablene som variable og utbytte som respons. Etter modellering så det ut til at prøve 19 og 12 skilte seg veldig ut fra de andre prøvene. Grad av forklart varians, RMSEP og korrelasjonen på kalibreringskurven og valideringskurven ble sammenlignet. På grunnlag av dette ble det bestemt at ingen prøver skulle holdes utenfor modelleringen.



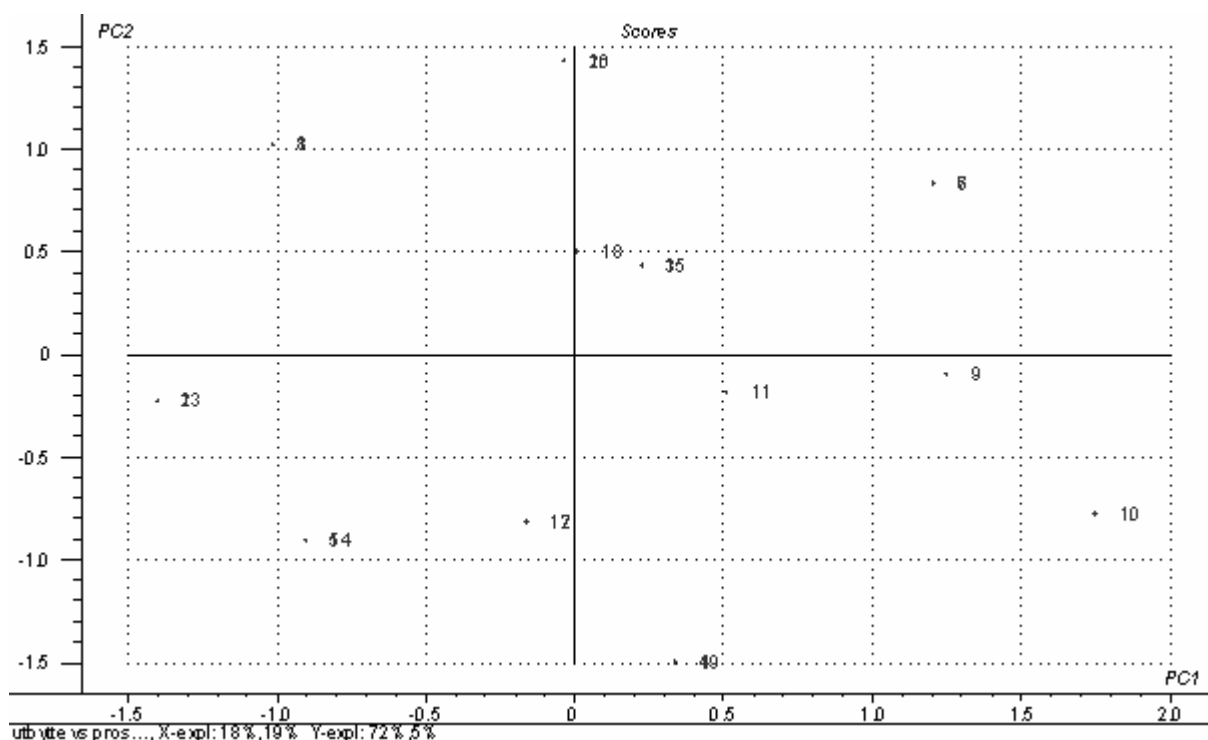
Figur 21: Regresjonskoeffisienter, der signifikante koeffisienter har standardavvik som er mindre enn størrelsen på koeffisienten

Signifikante effekter var konsentrasjon, amidering og samspillseffekten temperatur · viftehastighet. Hovedeffektene temperatur og viftehastighet var ikke signifikante, men må være med i modellen på grunn av at de har signifikante samspillseffekter. Alle de signifikante koeffisientene har positiv effekt på utbyttet.



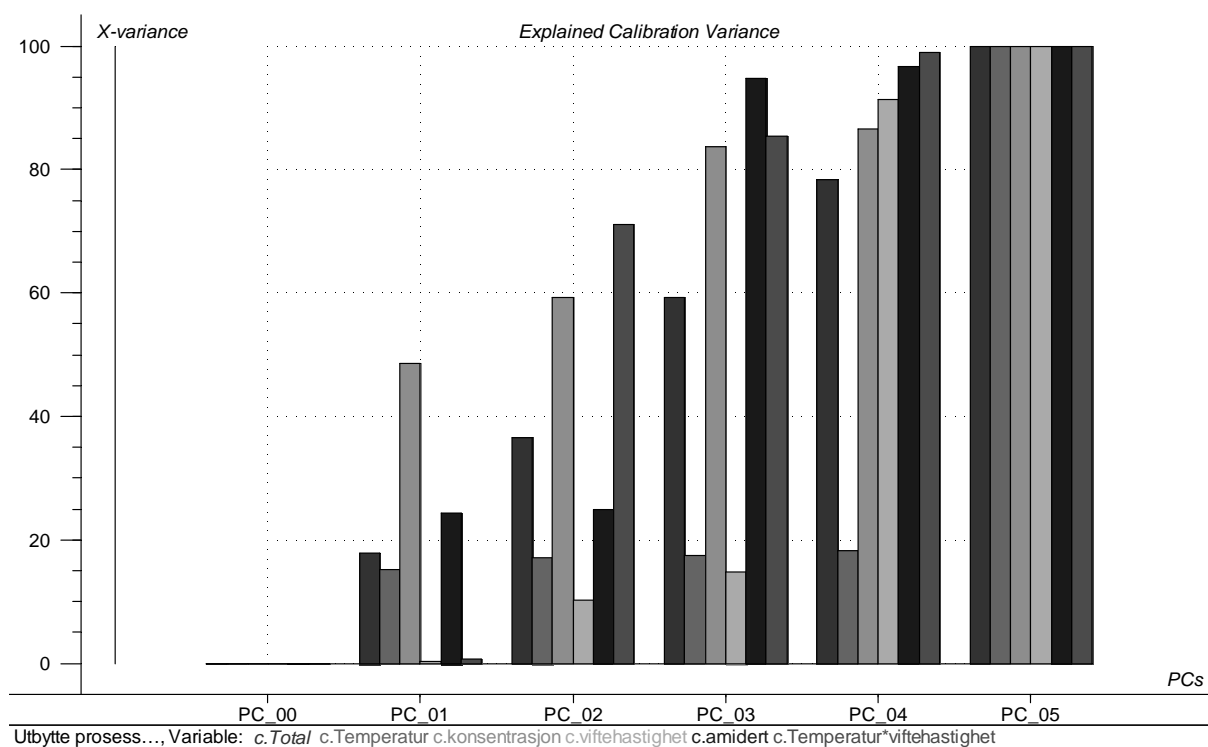
Figur 22: Predikert mot målt plott

Bare 41 % av X ene brukes til å forklare 77 % av variasjonen i Y kan ses ut fra laddingsplottet. Antall PC som benyttes i modellen i følge forklart Y variansplottet er to.



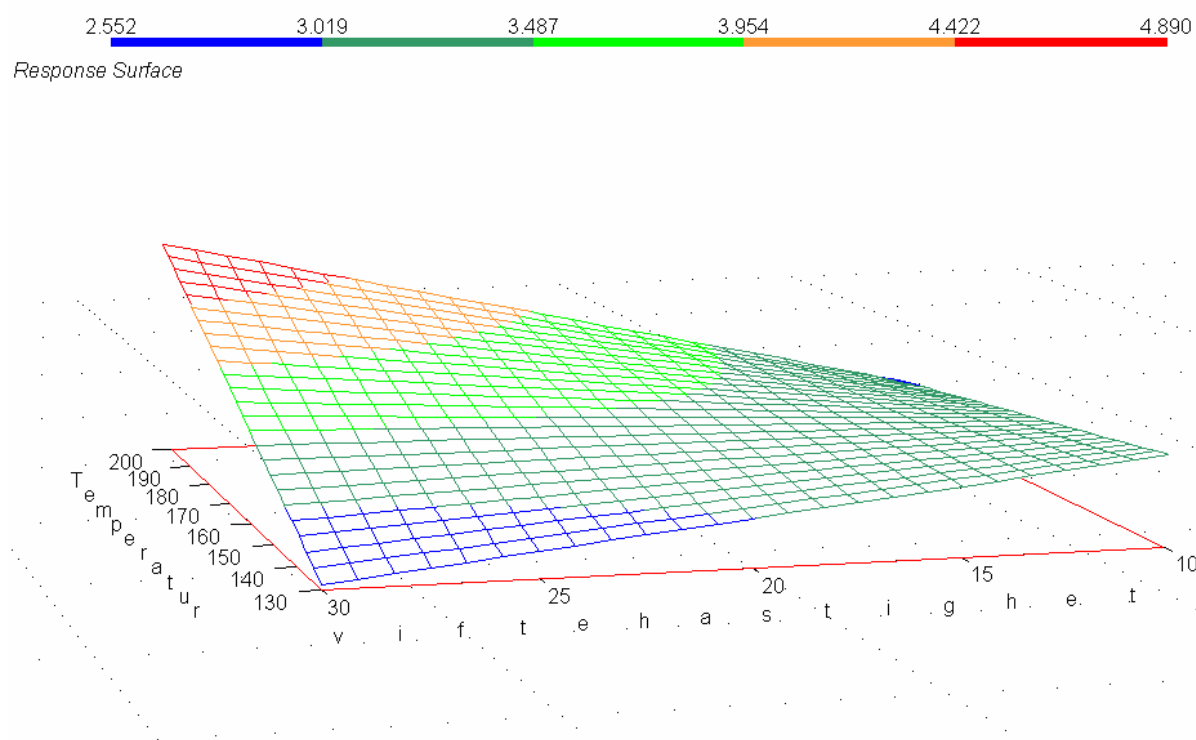
Figur 23: Scoreplot av PC 1 og 2

Ved å se på forklart kalibreringsvarianse forklarer PC 1 utbytte og til en viss grad konsentrasjon, PC 2 forklarer i hovedsak temperatur · viftehastighet. PC 3 forklarer amidering. Forklaring av konsentrasjon øker gradvis med antall PC.



Figur 24: Forklart kalibreringsvarianse. Plottet forteller hvilken variabel som blir forklart av hvilken PC.

Temperatur og viftehastighet var ikke signifikante i modellen, det gjør derfor ikke noe om de er dårlig forklart med to PC.



Figur 25: Responsflateplott av samspillseffekten temperatur · viftehastighet

For å få best utbytte lønner det seg å ha høy temperatur og høy viftehastighet. Ut fra figur 21 er det klart at konsentrasjon og viftehastighet også gir positiv effekt på utbyttet.

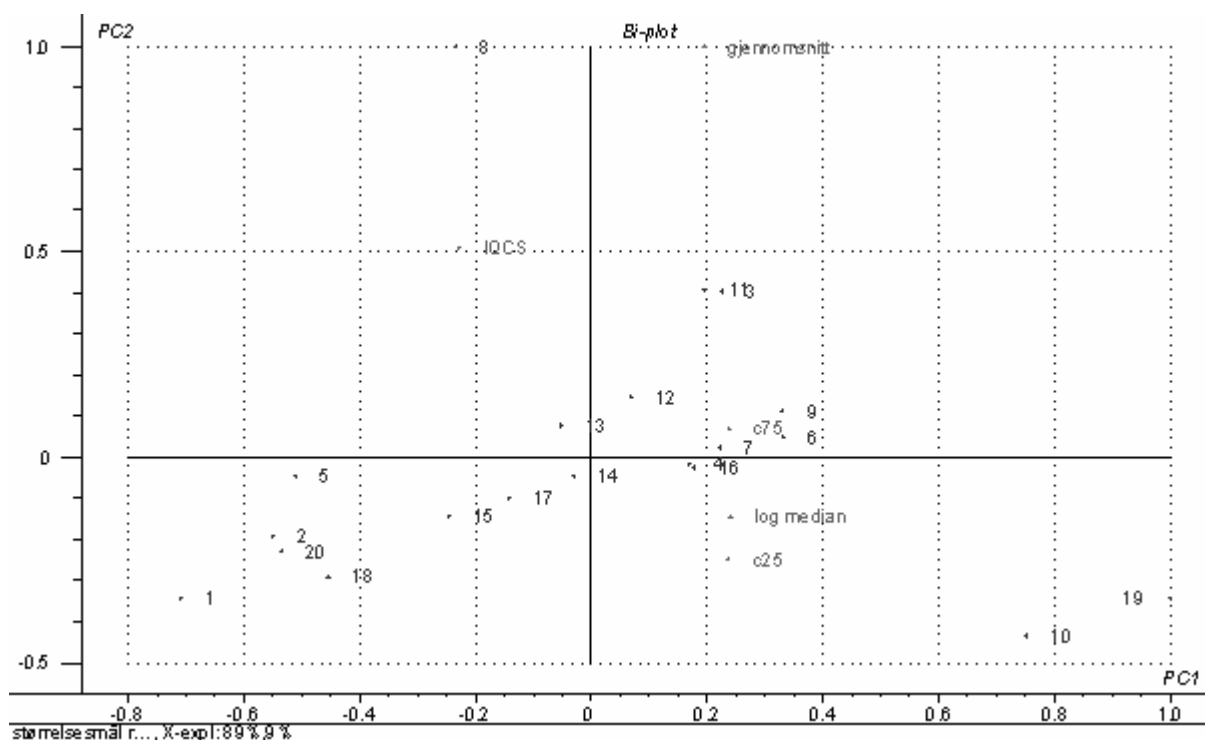
6.4 Lasentec® størrelsesmåling

6.4.1 Resultat fra størrelsesmåling

Resultat av størrelsesmåling er på side 82 i vedlegg.

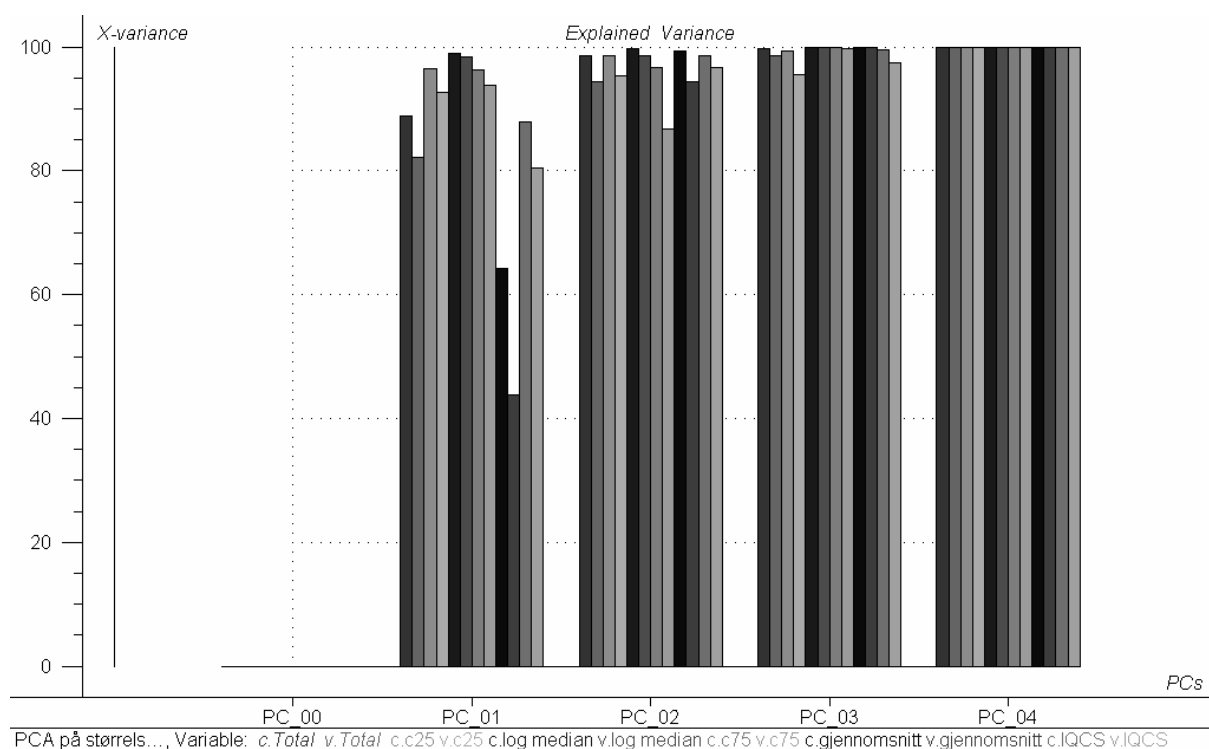
Moden var ganske lik på alle partiklene, og lå mellom 3,5 - 4,0 μm .

6.4.2 PCA på størrelsesmål



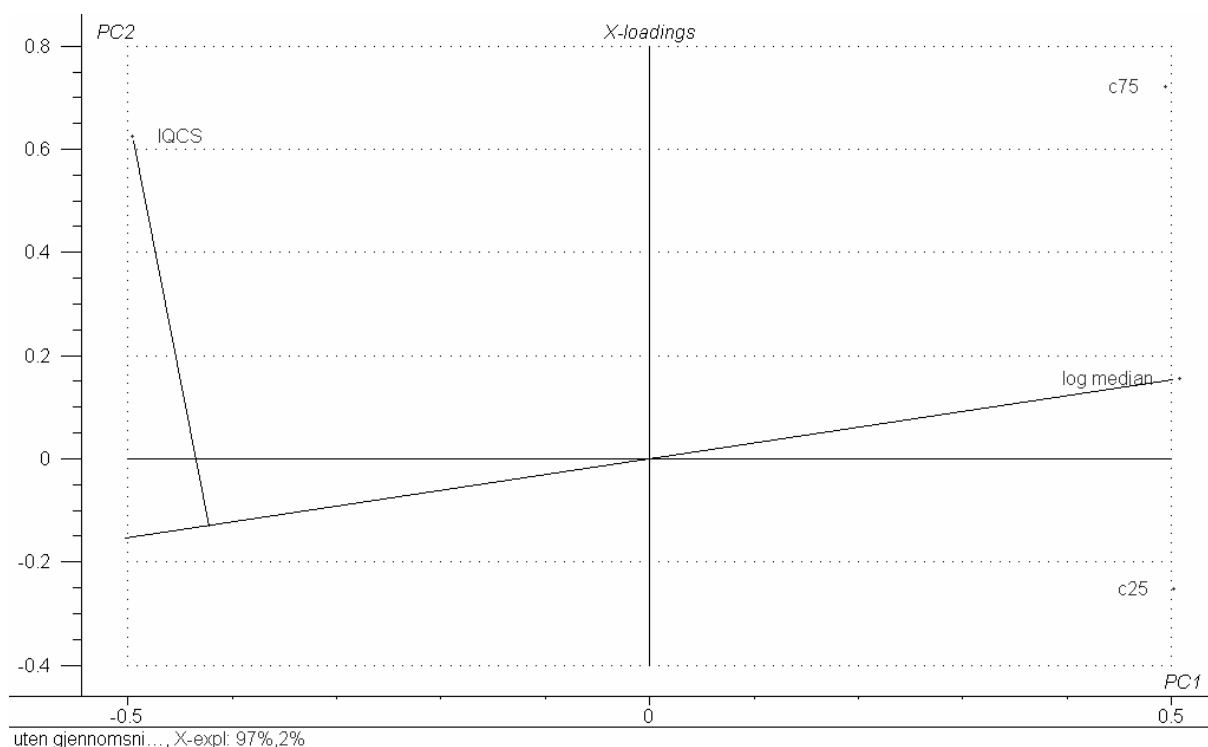
Figur 26: Scoreplot og loadingsplot av størrelsesmålene og prøvene

Ut fra biplottet (figur 26) er det trolig at IQCS er negativt korrelert med de andre størrelsesmålene. Gjennomsnitt skiller seg ut fra persentilene, og blir forklart av PC 3 i følge forklart kalibrerings varianse plottet (figur 27). Prøve 8 skiller seg ut ved å ha et veldig stort gjennomsnitt, mens prøve 10 og 19 har liten IQCS og stor størrelse.



Figur 27: Forklart varians plot der man kan se hvilken variabel som blir forklart av hvilken PC.

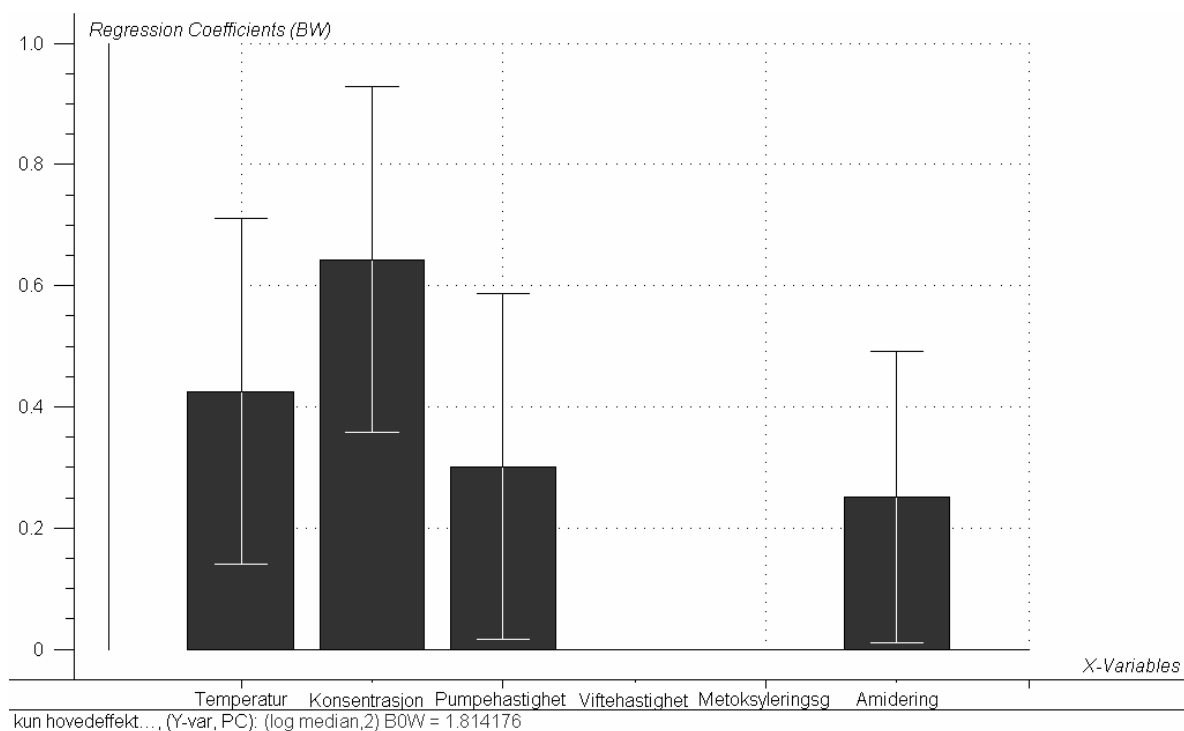
Ut fra figur 27 ser man at PC 1 forklarer c25, median, c75 og IQCS og ganske mye av total variansen, mens gjennomsnitt blir bedre forklart av PC 2. Antall komponenter som skal være med i modellen er fire, og dette kan ses ut fra forklart varians plottet (se vedlegg side 86). Det ble også kjørt en PCA analyse på bare c 25, median, c75 og IQCS (se vedlegg side 87), og her ble det enda tydeligere at størrelsesmålene var korrelerte med hverandre og IQCS var negativt korrelert med de andre målene. Prøve 8 ble også mer lik de andre prøvene etter fjerning av gjennomsnittet fra PCA, og antall PC skal være tre.



Figur 28: X-loadingsplott, der det er klart at IQCS er negativ korrelert med de andre målene, som selv er positivt korrelert

6.4.3 PLS 1 resultat på størrelse - Lasentec®

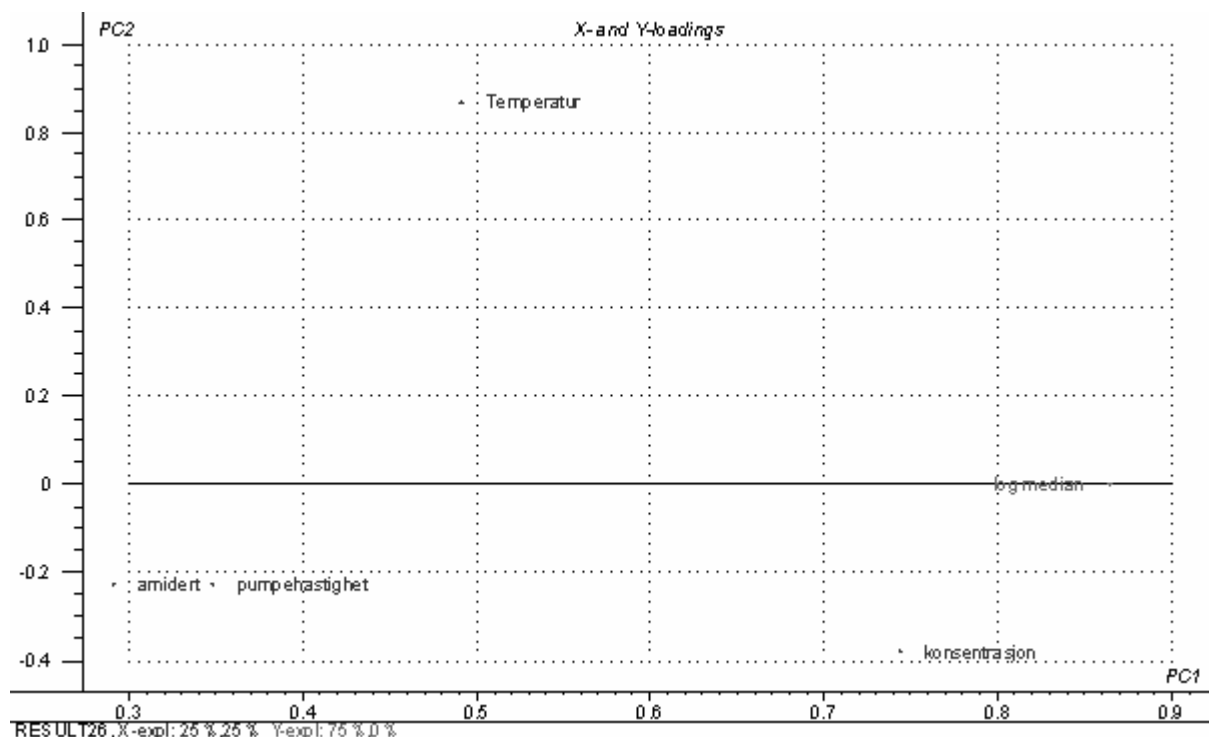
En PLS 1 analyse ble utført på prosessparameterne og relatert til medianstørrelse.



Figur 29: Signifikante regresjonskoeffisienter i en PLS 1 analyse på median og prosessparametere

Etter modelleringen ble det klart at det var kun hovedeffekter som fikk signifikans i modellen, og temperatur, konsentrasjon, pumpehastighet og amidering var signifikante. De var alle positivt korrelert med størrelse. Dette kan også ses ut fra X- og Y-ladningsplottet (figur 30), hvor det kun er én PC. Ingen av disse parameterne er negativt korrelert med størrelse.

Amidering og pumpehastighet ligger ganske nær hverandre i loadingsplottet og kan være korrelerte. Amidering og pumpehastighet ble plottet mot hverandre, men det så ikke ut som om de var korrelerte.



Figur 30: X- og Y-ladningsplott. Modellen krever bare én PC for å forklare 75 % av variasjonen i Y.

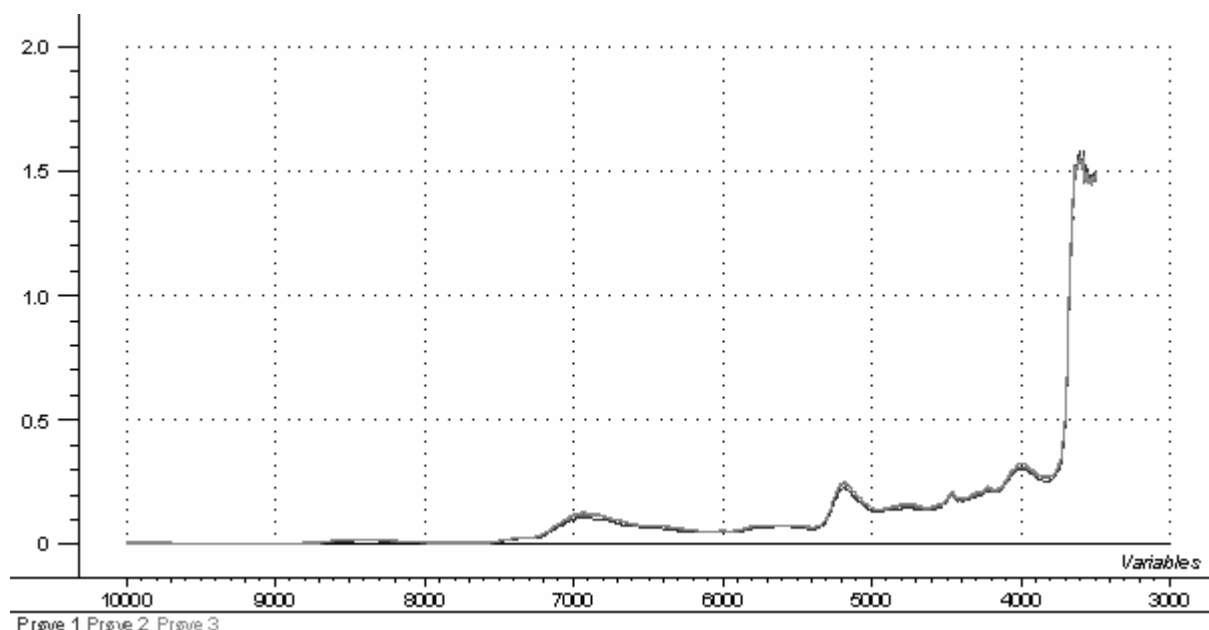
6.5 Modellering på NIR målingene på tørrstoff

6.5.1 NIR måling på tørrstoff

Full kryssvalidering skal gjøres med forsiktighet med målereplikat, siden modellen kan bli for optimistisk. I så fall må man blokke kryssvalideringen, slik at målereplikatene holdes utenfor for modellen sammen. Et snitt av målereplikatene er derfor ønskelig, for å gjøre modelleringen enklere.

Det ble tatt opp 3 målereplikat på noen av prøvene på grunn av stort avvik mellom de to første målingene. De avvikende målingene ble fjernet før gjennomsnittet ble beregnet.

gjennomsnittet.



Figur 31: Lineplott av tre prøver av DM 70

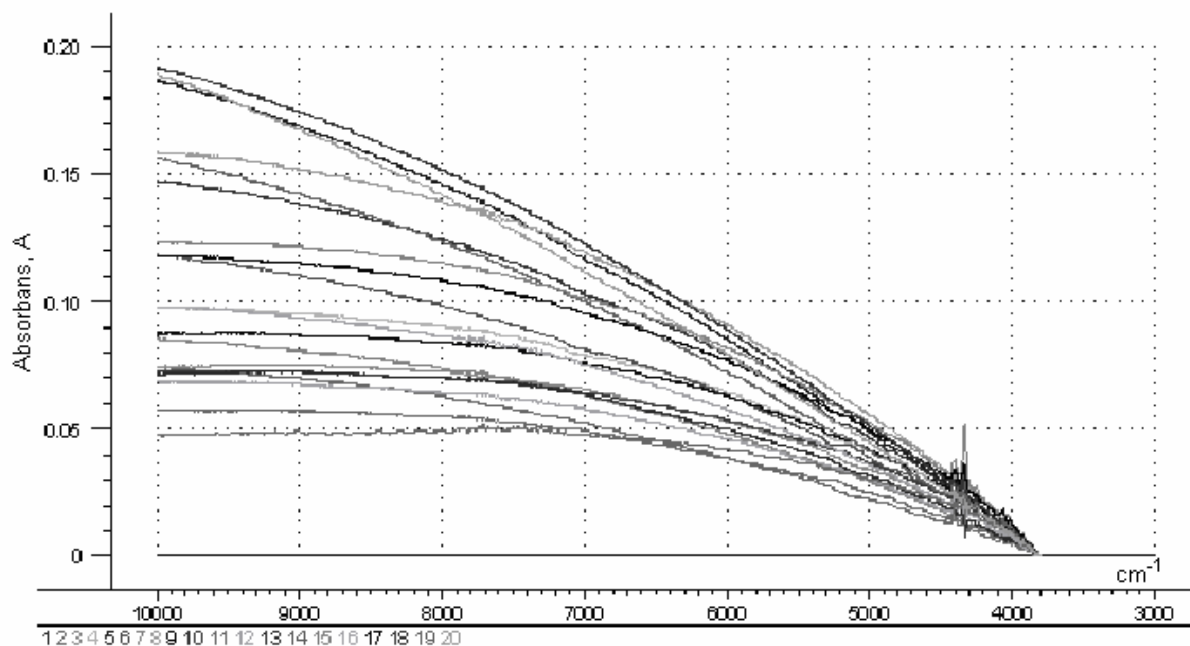
Tre forskjellige prøver med DM 70 er plottet i figur 31, der det nettopp kan være størrelsesforskjeller som kommer til uttrykk, siden det er samme type pektin. Ved første modellering så det ut til at det var mange signifikante bølgelengder i NIRspekteret, men etter forenkling av modellen gjentatte ganger ble ingen bølgelengder signifikante. Det så ikke ut til at diffus refleksjon kunne relateres til variansen i Y i dette oppsettet.

6.5.1 Reproduserbarhet

Det var minimale forskjeller, profilen på målereplikatene var lik. Men det så ut til at de første målingene hadde små avvik fra målingene i midten og ved slutten av analysen.

6.6 Modellering på NIRS på suspensjon

Det ble utført en PLS 1 analyse på NIRS på suspensjon av mikrosfærer i suspensjon. Dataene ble gjort om til absorbans (se kapittel 3.7.2).

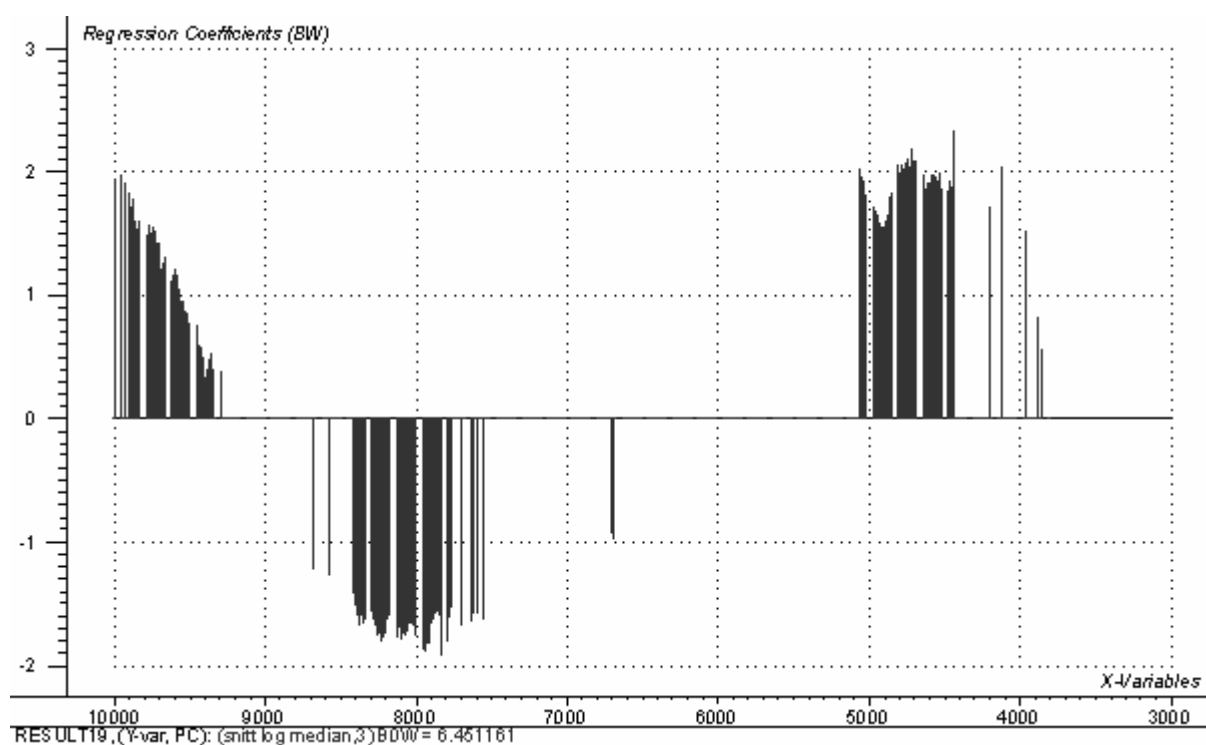


Figur 32: Lineplott av alle prøvene

Det ble prøvd å relatere størrelse på partiklene til NIRspekteret, for å få en rask og nøyaktig metode for å bestemme partikkelstørrelsen.

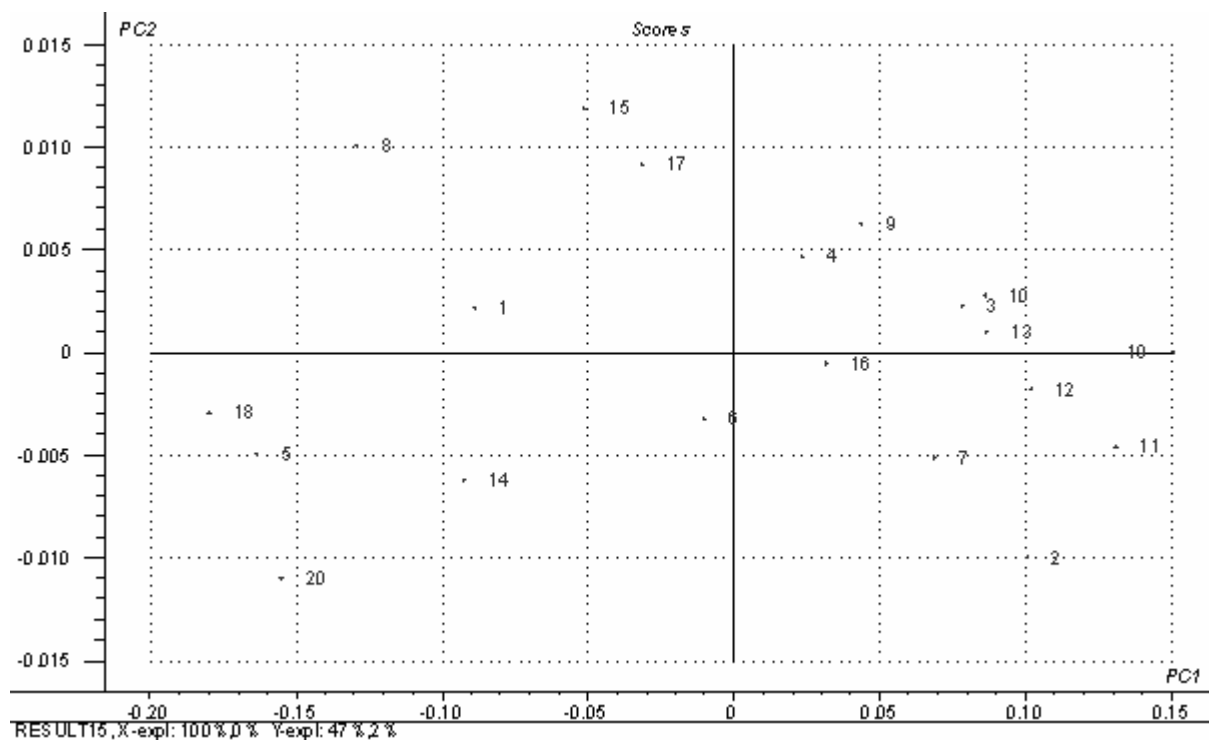
6.6.1 PLS 1 modell på suspensjonsdata og størrelse

Signifikante regresjonskoeffisienter kom omtrentlig i områdene 10 000 til 9300 cm^{-1} , 8400 til 7800 cm^{-1} , 5200 til 4400 cm^{-1} og et lite område fra 4200 til 3800 cm^{-1} .



Figur 33: Signifikante koeffisienter i en PLS 1 analyse av NIR spekteret på suspensjon (X) og størrelse (Y)

Regresjonskoeffisientene i området med lavest bølgetall ble fjernet, fordi en del usikkerhet er forbundet med dette området. Modelleringen ble fortsatt på de gjenværende signifikante områdene, og videre forenkelt til modellen besto av ni signifikante koeffisienter. Dette ga allikevel en forklaringsprosent på 49 % av variansen i størrelse (Y). Antall PC skal være tre.



Figur 34: Scoreplot av prøvene

Tabell 8: Oversikt over signifikante regresjonskoeffisienter etter forenkling av modellen

Bølgetall (cm ⁻¹)	Regresjonskoeffisienter
9984	302,9
8376	-113,65
8332	-106,1
8316	-84,8
8272	-89,3
8244	-114,6
8228	-112,5
8200	-90,6
6664	469,0

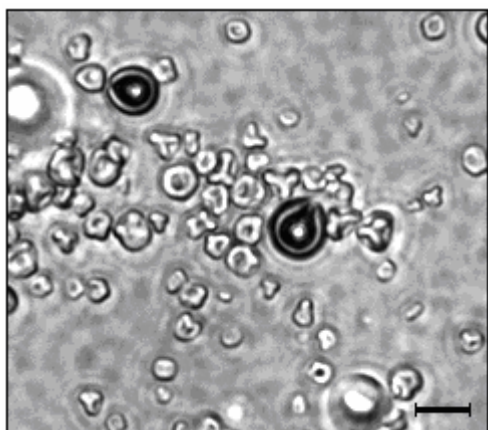
Modellen ble kryssvalidert med 5 blokker med 4 tilfeldig valgte prøver. Dette førte til at residualvariansen på PC 1 sank, men modellen forklares fortsatt av tre PC (side 92 i vedlegg).


6.6.2 Reproduserbarhet

Plotting av målereplikatene viste helt ubetydelig endring over tid.

6.7 Mikroskopbilder av mikrosfærene

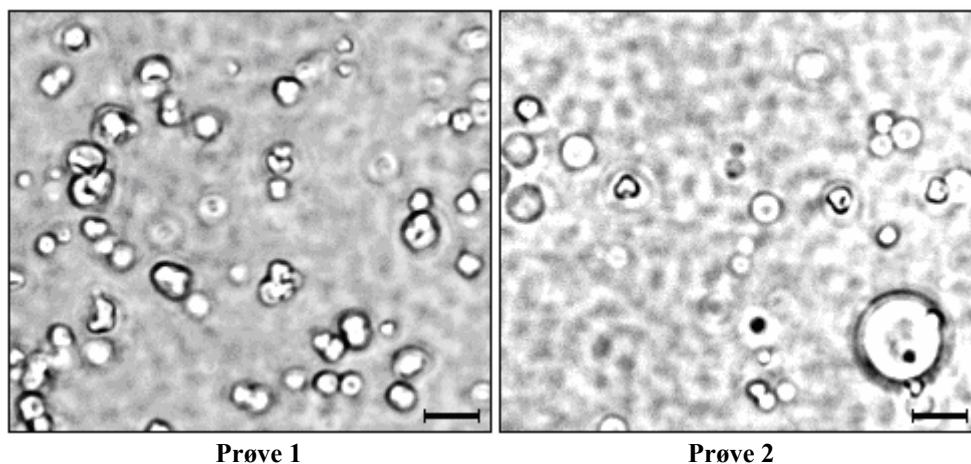
Hensikten med mikroskoperingen var å se hvordan partikkelformen så ut, om det var runde kuler eller kuler med utblåsningshull. Det var også ønskelig om en kunne si noe om størrelsesfordelingen mellom partiklene, om de kunne ses i sammenheng med størrelsesmålingene fra Lasentec®. Bildene er sortert etter økende størrelse målt med Lasentec®. Det ble lagd et utsnitt av bildet, men hele bildet er gjengitt i vedlegg fra side 93 til 112.

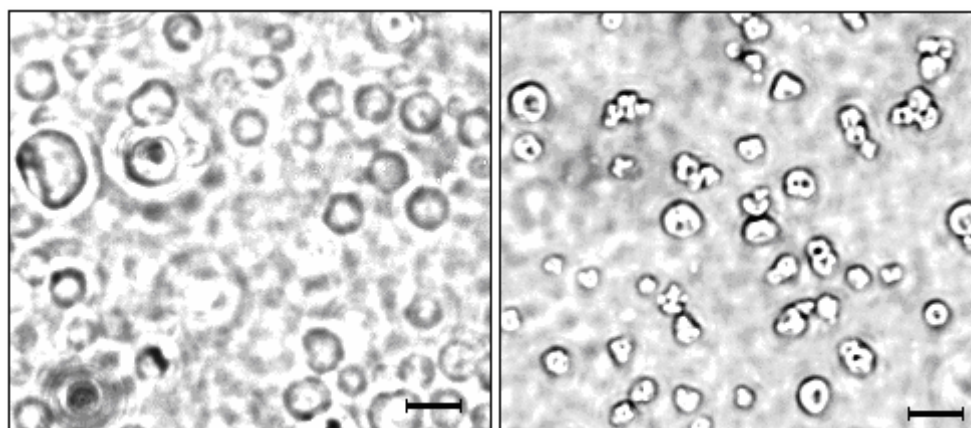


Figur 35: Eksempel på utblåsningshull i prøve 15.  = 10 μm

Noen av prøvene hadde også utblåsningshull, som vist i figur 35.

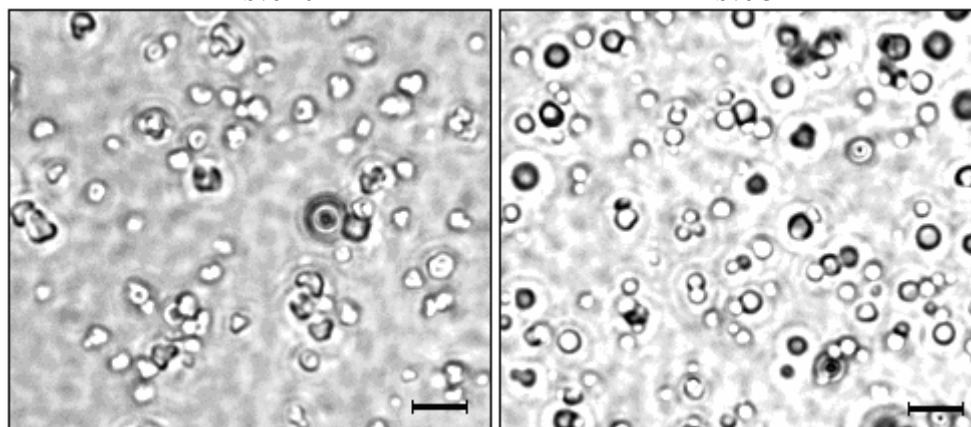
Partiklene så ut til å ha skrumpet sammen, spesielt var dette synlig på de største partiklene.





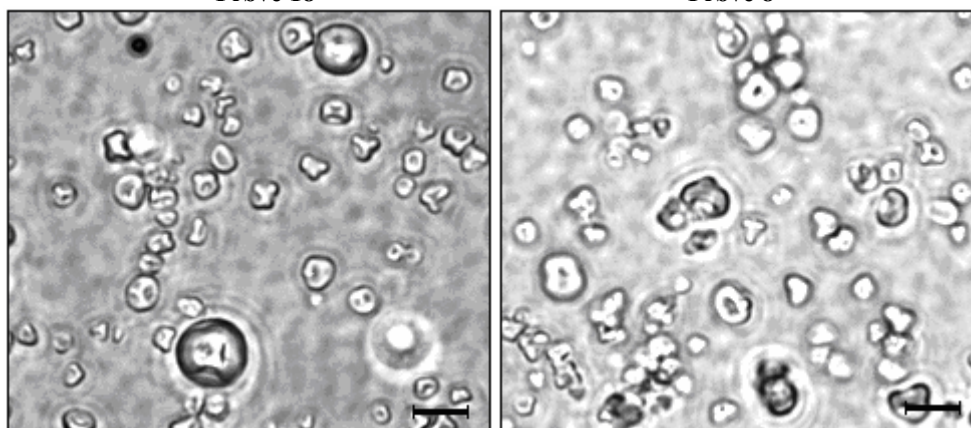
Prøve 20

Prøve 5



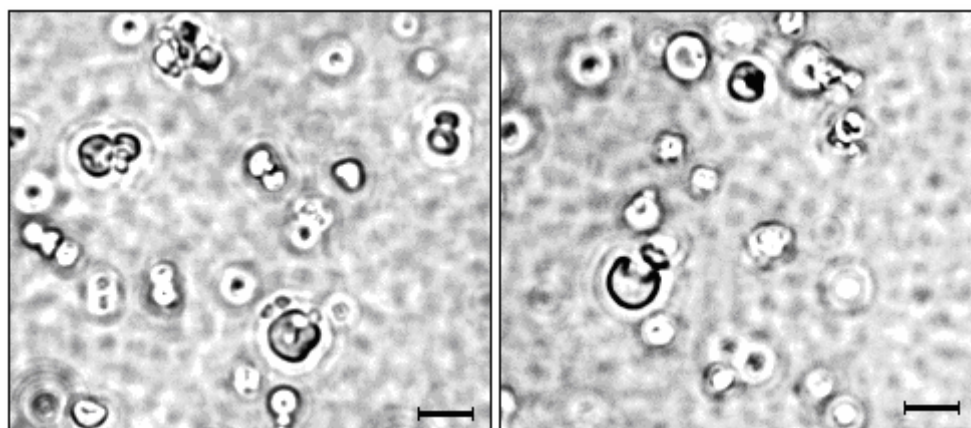
Prøve 18

Prøve 8



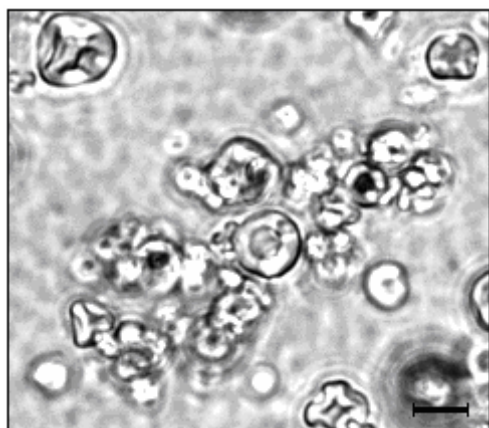
Prøve 15

Prøve 17

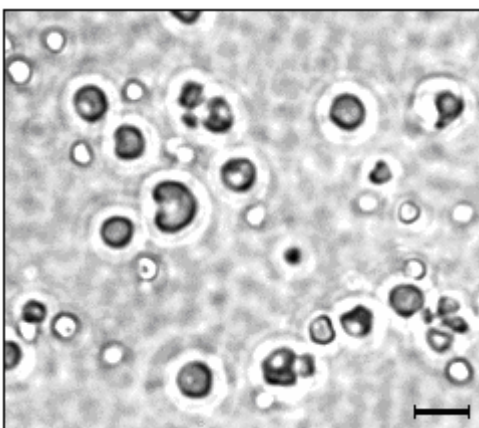


Prøve 13

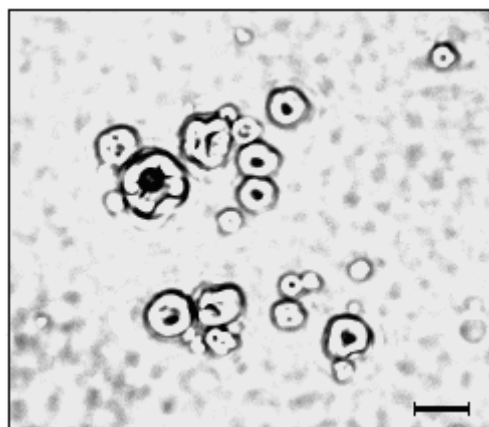
Prøve 14



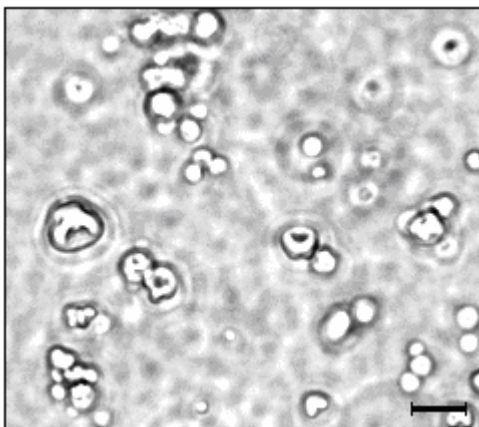
Prøve 12



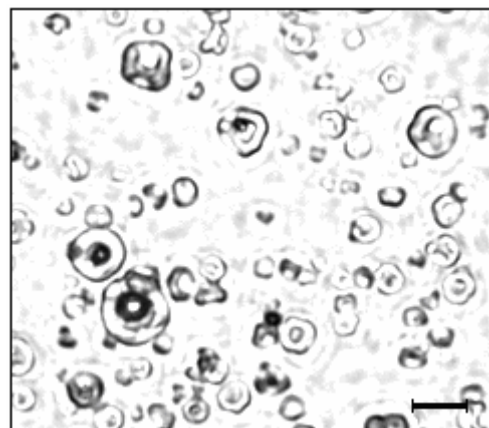
Prøve 3



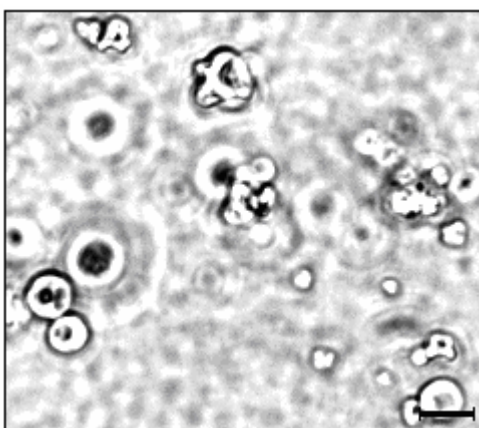
Prøve 4



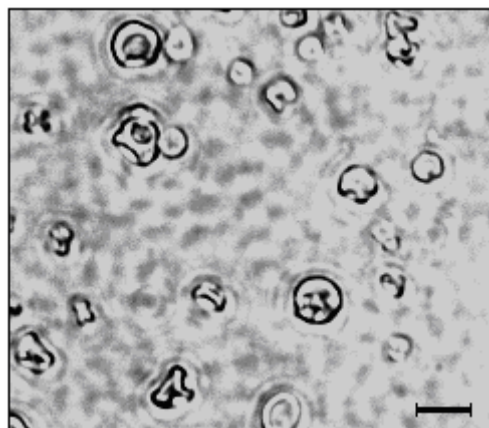
Prøve 11



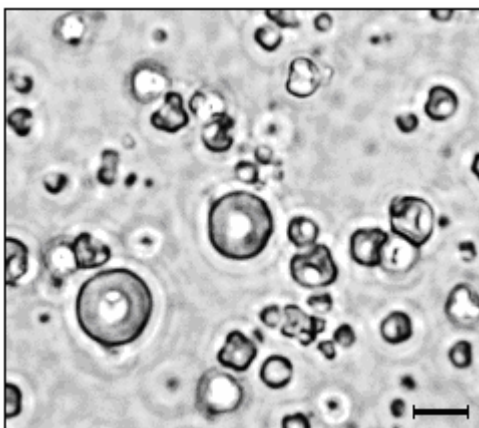
Prøve 16



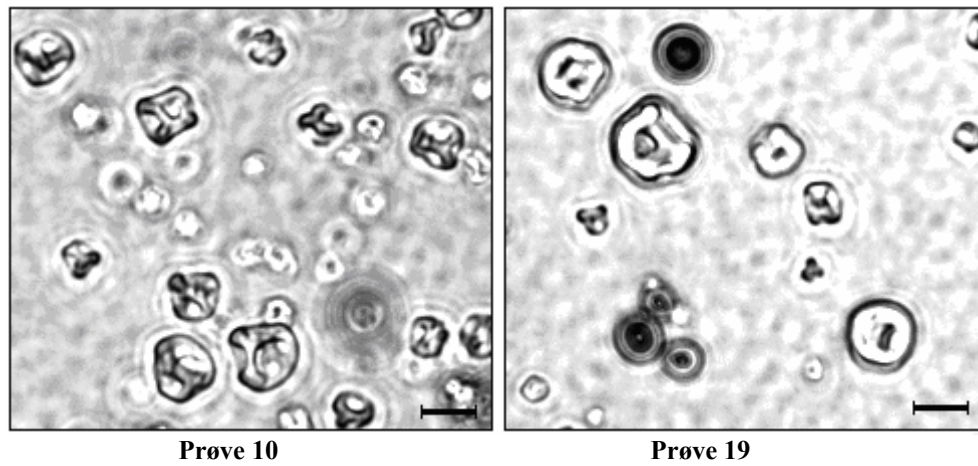
Prøve 7



Prøve 6



Prøve 9



— = 10 μm

Figur 36: Utsnitt av mikroskopbilde, forholdet mellom ruler og bildet er den samme som i de opprinnelige bildene.

7 Diskusjon

7.1 Molekylvektbestemmelse

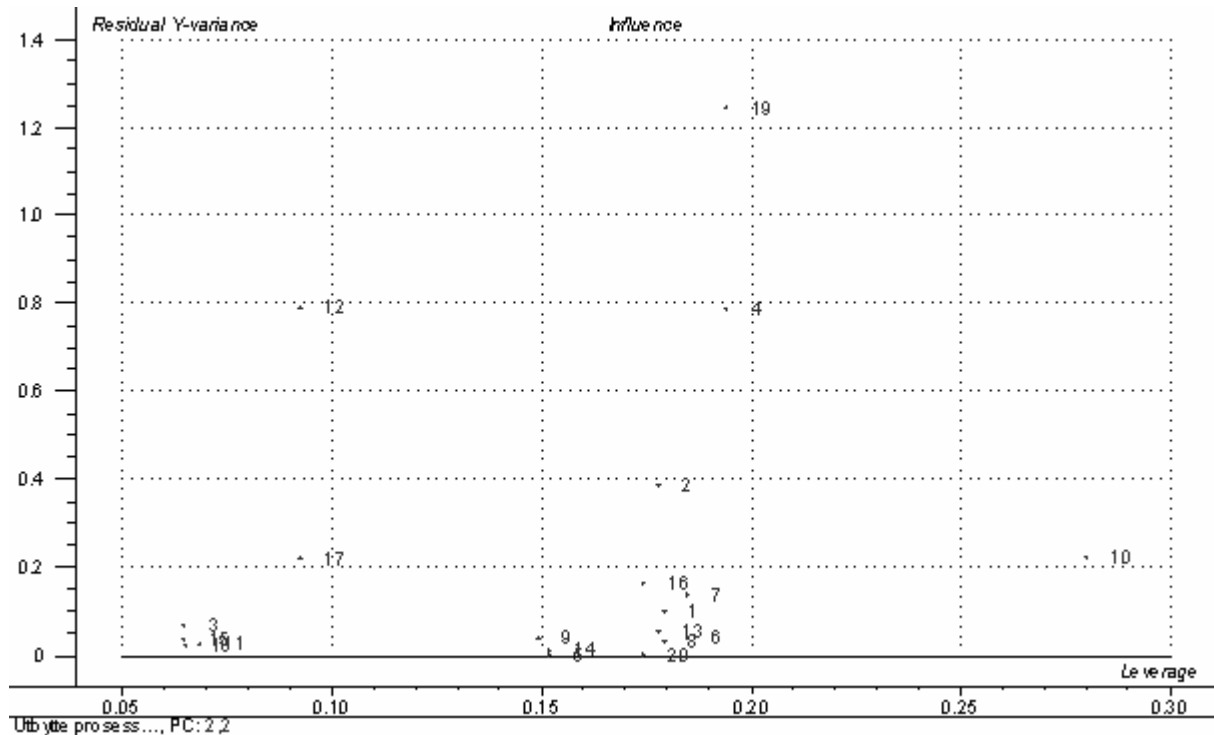
7.1.1 Molekylvekt

Molekylvekten varierte mellom omtrent 70 000 – 100 000 Da. DM 70 skilte seg ut med litt større størrelse enn de andre, men molekylvekten ligger innenfor gjennomsnittet (se kapittel 3.2.1).

7.2 Utbytte

7.2.1 PLS 1 analyse

Modelleringen var vanskelig, der det å fjerne en uteligger kunne gjøre at effekter ikke lenger var signifikant. Influenceplottene indikerte at prøve 19 skilte seg ganske mye ut fra de andre prøvene. Men det ble tilslutt bestemt å ikke fjerne noen uteliggere, mest fordi 19 har høyt residual, men ikke veldig stor leverage. Effekten prøve 19 har på regresjonslinja er å forflytte linja oppover, uten særlig innvirking på slope. Prøve 12 og 13 skilte seg ut etter fjerning av prøve 19, og bør også holdes inne i modellen, også siden 13 er den prøven med minst utbytte.



Figur 37: Influenceplott

Det var forventet at viftehastigheten skulle ha en negativ effekt på utbyttet, siden tapet ut med eksosen øker med den. Viftehastigheten var ikke en signifikant hovedeffekt, men hadde sammen med temperatur en positiv effekt på utbyttet. Når både temperatur og viftehastighet har høyt nivå, gir dette høyest utbytte, og dette kan forklares med at tapet til tørkekammerveggene har mer å si på totalt utbytte enn tap av partikler med eksosen. Effekten av temperatur på viftehastighet er liten ved lav temperatur, mens den er størst ved høy pumpehastighet og høy temperatur. Det er rimelig å anta at tapet av produkt til veggene i tørkekammeret er større ved lav temperatur enn høy, siden partiklene kan tørke saktere. Det er også en mulighet at tapet av produkt med eksosen er større ved lav temperatur enn høy.

At konsentrasjonen skal ha noe å si på utbyttet, kan ha noe med at partiklene tørker raskere ved samme temperatur, enn en lavere konsentrasjon, siden mengden vann i forhold til pektin er lavere. Om partiklene blir raskere tørre vil tapet til veggene i tørkekammeret bli mindre.

Amidering var ikke en forventet signifikant effekt, og den har størst effekt på utbyttet. Den effekten kan skyldes at amidert pektin kan ha en mindre tendens til å adsorbere til glass, og at produktet blir mindre elektrostatiske.

Det kan se ut som om modelleringen på utbytte er ganske usikker. Produktet var vanskelig å få ut av beholderen, noe som kan ha bidratt til dette. Hovedeffektene var signifikante, og i alle fall hadde temperatur og amidering effekt godt innenfor usikkerhetsgrensen.

Utbyttet er lavere enn Giunchedi [25] fant, der var utbyttet på mellom 40 og 46 %. Der hadde de brukt en 1 % w/v acetonløsning, noe som ifølge kapittel 3.4.3 kan føre til raskere fordamping av vannet og mindre tap til glasset i tørkekammeret. Det ble vurdert å prøve ut acetontilsetning i løsningene, men det var ikke mulig å gjennomføre siden eksosen da må legges til et avtrekk. Det var ikke tilgjengelige avtrekk i laboratoriet.

Deblokkeringsfunksjonen påvirker spraymønsteret, og rett etter nålen har blitt presset ned og trukket seg tilbake, kommer det en større mengde løsning gjennom dysen siden pumpehastigheten er den samme, og ingen forstøvning skjer når deblokkeringsnålen er nede. Dette kan føre til økt avsetning på kammerveggen og en bredere størrelsesfordeling. Det kan være en mulighet å erstatte kompressoren til forstøvningen slik at denne holdes konstant. Pumpehastigheten hadde ingen signifikant effekt, men den burde kanskje erstattes av en annen pumpe med mulighet for lavere output i situasjoner der fukting på tørkekammerveggen skjer ved laveste pumpehastighet.

Bare 37 % av X brukes til å forklare 77 % av variansen i Y, i tillegg er usikkerheten i modellen, RMSEP, 0,9, mens residual valideringsvarianse er 0,43. Men den kan brukes til å forklare effekten av de like parameterne på utbytte, selv om predikeringen av mengde utbytte ikke er nøyaktig.

7.3 Størrelse

7.3.1 PCA på størrelsesmål

Moden ble ikke tatt med som en del av størrelsesmål. Den var ganske lik mellom prøvene, og antagelig bestemmes denne av en parameter som ikke har blitt variert i forsøket. Dette kan være dysestørrelsen.

I loadingsplottet lå alle størrelsesmålene veldig korrelert. IQCS var negativ korrelert med de andre størrelsesmålene. Om IQCS er null, er fordelingen symmetrisk mellom kvartilene [34]. Målingen på størrelse ble bare foretatt ned til 1 μm , noe som vil føre til en skjevhet på fordelingen om det er partikler til stede i suspensjonen som er $\leq 1 \mu\text{m}$. Dette vil ha spesielt mye å si for prøvene som har liten størrelsesfordeling. I tillegg er det mulig at viftehastigheten

har noe å si på partikkelstørrelsesfordelingen, siden de minste partiklene skal følge ut med eksosen. Derfor vil en større partikkelstørrelse føre til en mer symmetrisk kurve, og dermed en mindre IQCS. Dette er fordi målingscutoff vil få mindre å si på stor størrelsesfordeling enn liten. Det kan ha vært problemer med aggregering av partiklene, slik at for eksempel prøve 8 ser ut til å ha en jevn og liten partikkelfordeling i mikroskopbildene (se figur 36 i kapittel 6.7), men har stor IQCS og stor gjennomsnittsstørrelse i følge Lasentec® målingene. Det var tydelig at prøve 8 hadde flest partikler opp mot 100 μm , noe som kunne leses ut fra kordefordelingen. Det er derfor rimelig å anta at dette skyldes aggregering av partikler. Dette understøtter også valget av median som størrelsesmål siden denne ikke er like følsom som gjennomsnittet for aggregering.

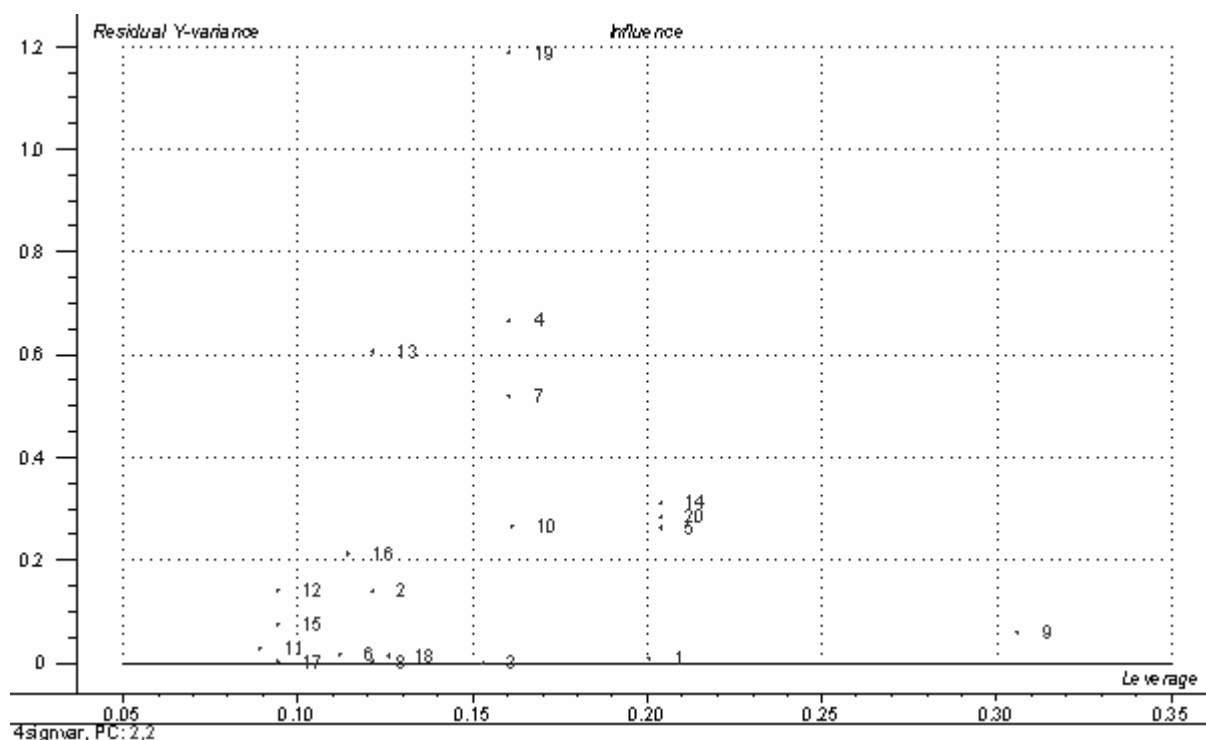
Over tid var det en generell nedgangstrend i målt partikkelstørrelse. Dette kan komme på grunn av at aggregatene rives fra hverandre med tiden, men også at partiklene påvirkes. Dette var ganske tydelig i kurvene som viste fordelingen av størrelsen på partiklene. Det var en klar haledannelse på fordelingskurven mot større størrelse (se vedlegg side 75 til 81). Ut fra disse tallene, så det også ut som om sonikering ikke ga noen bedring på aggregering av partiklene, heller tvert imot. Ved målinger før og etter sonikering på samme prøve, er det større størrelse, altså mer aggregatdannelse etter sonikeringen. Det er derfor uheldig å benytte sonikering til å bryte opp aggregater, da sonikering ser ut til å danne aggregater i stedet for å bryte de fra hverandre. Ved sonikeringen tilføres energi, og en mulig grunn for aggregering er at vibrasjonene øker sannsynligheten for kontakt mellom kjedene på partikkeloverflaten. Partiklene er heller ikke løselige i etanol, så det kan være at den lyofobe effekten øker ved sonikering, som øker sammenklumping av partiklene. Partiklene mistenkes også til å skrumpe inn i etanol, som kan påvirke størrelsesmålingen. Dette ble sett ved innledende mikroskopforsøk. Det er mulig at det å velge en form for olje for størrelsesmålingen hadde vært et bedre alternativ for størrelsesmålingen. Om oljen har dårligere fukteegenskap for pektinpartiklene, er det mulig at partiklene ville holde formen bedre.

7.3.2 PLS 1 på størrelse

Siden de ulike målene på størrelse var så korrelert, ble det bestemt at det skulle gjøres en PLS 1 analyse på median. Gjennomsnittet blir kunstig høyt siden det antageligvis var en del aggregater i suspensjonen. Median gir derfor et sikrere tall på størrelsen siden det er den midterste målingen. Moden vil også kunne gi et godt mål, siden det er den korden det flest partikler ble målt. Siden Lasentec® har en nedre målegrense på 1 μm , burde en

størrelsesanalyse som har måleområde i et litt lavere størrelsesområde benyttes ved senere forsøk.

Når det gjelder uteliggere ble ingen prøver fjernet. Men fra influenceplottet, ser det ut til at prøve 19 er en mulig uteligger. Den har relativt mye residualvariansen i forhold til de andre prøvene. Prøve 19 skilte seg også ut i modelleringen på utbyttet. Prøve 19 ble forsøkt fjernet, og dette ga bare en marginalt bedre modell. Residualvariansen på PC 1 økte fra 0,44 til 0,49, noe som tyder på at prøve 19 forklarer ganske mye av modellen. Nedgangen i forklart valideringsvariansen kan forklares med at pumpehastighet ikke lenger en signifikant effekt etter prøve 19 ble holdt utenfor. RMSEC og RMSEP ble litt mindre når prøve 19 fjernet, og korrelasjonen ble litt bedre, +0,01. Det er derfor mulig at pumpehastighet forklarer prøve 19, og avhengig om prøve 19 er en uteligger eller ikke, kan denne effekten være usikker i forhold til å forklare resten av prøvene.



Figur 38: Influenceplot

De signifikante effektene i PLS 1 analysen hadde alle positiv effekt på partikkelstørrelsen. Når det gjelder temperaturen, fører dette kanskje til at partiklene tørker raskere, slik at også større dråper rekker å tørke før de kan bli adsorbert til overflaten av glasset i tørkekammeret. Økt konsentrasjon gir økt partikkelstørrelse, det er mer stoff i en dråpe ved høy konsentrasjon enn lav. Derfor vil partiklene bli større, selv om dette også kan påvirke partikkeltettheten. Økt

pumpehastighet fører til økt dråpestørrelse, dermed vil det også være mer stoff tilgjengelig i dråpen som kan danne en fast partikkel.

Amidering fører til større partikkelstørrelse. Elversson med kollega [23] rapporterer at løselighet kan ha noe å si på partikkelstørrelse. Jo lavere løselighet et stoff har, jo raskere vil fast stoff felle ut på overflaten av dråpen rett etter forstøvning. Derfor vil partikkelen ha mindre tid på å krympe, og den blir større. Det var vanskelig å finne noe om løseligheten til amidert pektin, men en amidgruppe er klart mindre hydrofil enn en syregruppe.

Det var overraskende at ikke viftehastighet hadde signifikant effekt på partikkelstørrelsen. Produsenten [27] hevder at det er de minste partiklene som føres ut med eksosen, og derfor burde antall små partikler i produktet bli mindre med høy viftehastighet enn lav. Men det var ikke definert hva som var små partikler, og det kan være mulig at alle partiklene kan anses som små i denne sammenhengen, og at denne effekten får mer å si for produkt med større partikler og større spredning på størrelsen. Lasentec har en nedre målegrense på 1 μm , slik at partikler i prøven under denne størrelsen ble uansett ikke målt. Da Lasentec gir en størrelsesfordeling, og median som var tallet vi brukte på størrelse, er påvirket av spredningen på partikkelstørrelsen, burde viftehastigheten hatt en teoretisk positiv effekt på partikkelstørrelse.

7.3.3 PLS 1 på størrelse og NIR tørrstoff

Det var noe avvik i målereplikatene til refleksjonsmålingene. Grunnen til disse avvikene kan være at prøve glasset kan ha reflektert stråler tilbake til detektoren, derfor ble prøveglasset rotert før neste måling. En annen mulighet er at ikke absolutt alle flakene fra tørkekammeret ble fjernet fra prøven, at de var for små til å bli oppdaget. Dette er grunnen for å riste forsiktig på glassene, for å få fordelt pulveret i prøven.

Berntsson med kollegaer [53] fant at ved å endre tykkelsen på pulveret i prøveglassene, fikk man en endring i $\log 1/R$ som kunne forklares med en eksponentiell funksjon. Størrelsen ble bestemt ved å tilpasse en eksponentiellfunksjon til absorptionsdata til hver enkelt av bølgelengdene i spekteret. De fant at det var sammenheng mellom eksponentiellfunksjonen og størrelse ved visse bølgelengder i NIR spekteret. Dette ble ikke gjort i disse målingene, der det kun ble tatt opp spektrum på én pulvertykkelse, som skulle være stor nok til å hindre stråling gjennom prøven. Det er derfor nødvendig med videre studier for å finne ut om denne metoden kan benyttes på pektinpartiklene.

7.3.4 PLS 1 på størrelse og NIR suspensjon

Det så ut til å være signifikant sammenheng mellom størrelse og absorpsjon, da modellen ikke så ut til å endre seg når modelleringen ble gjentatt med kun signifikante bølgelengder. Etter signifikante regresjonskoeffisienter i område 4300 til 3800 cm^{-1} ble holdt utenfor modellen, og med videre forenkling, ble antall signifikante koeffisienter redusert til 9. Men denne modellen var allikevel i stand til å forklare 49 % av variasjonen i Y.

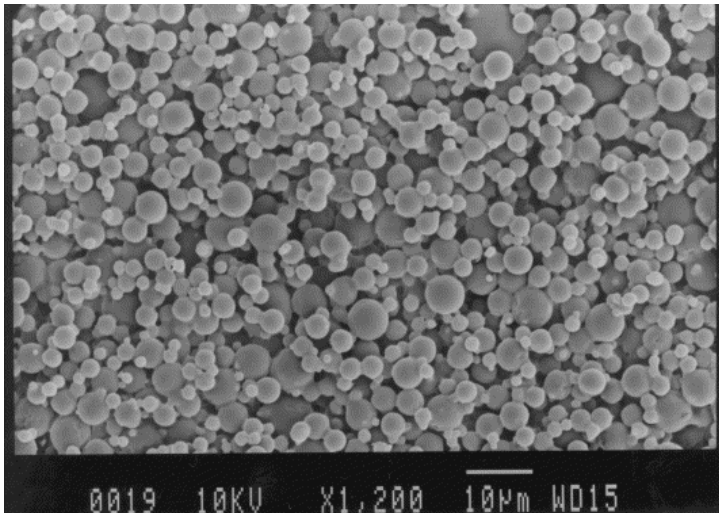
Prediksjonsevnen ble også testet ved å gjennomføre en blokkvis kryssvalidering i tillegg til den fulle kryssvalideringen. Det er dog ikke usannsynlig at kalibreringen vil være i stand til å finne noe blant 1625 X-er som kan forklare variansen i Y. Det var mer arbeid å utføre en NIR analyse på suspensjonen enn det var på tørrstoffet. En suspensjon måtte lages, og rengjøringen av kyvetten mellom hver måling var tidkrevende. Måling av diffus refleksjon er mye enklere, men det er mulig et er nødvendig å måle på flere forskjellige tykkelser av pulver. Fordelen med diffus refleksjon er at prøven ikke blir ødelagt, og for prøver som har veldig lavt utbytte er det et viktig poeng.

Det er vanskelig å si noen konkret om hvorvidt det er mulig å benytte suspensjonsmålingene til størrelse, men det er et potensial for videre arbeid på området. Det vil være behov for validering av metode med test set og forsikre seg om at metoden for å måle størrelse er god.

7.4 Mikroskopbilder

7.4.1 Mikroskopbilder

Chang med kollegaer [24] fant at pektinmikrosfærene fikk en sprekk direkte etter spraytørring. Giunchedi med kollegaer [25] fant derimot at pektinkulene var sfæriske med glatt overflate.



Figur 39: SEM bilde av pektinmikrosfærer med glatt overflate[25]

Det var ikke alle bildene som var gode, spesielt bildet var det vanskelig å få noe informasjon ut fra av prøve 20.

Under de første forsøkene på å se på partiklene i mikroskop, så det ut til sprit som fuktemiddel førte til en deformering av partiklene. Det så ut som om partiklene skrumpet inn i sprit, og det samme skjedde også i glyserol, men i en mindre grad. Men den effekten var ikke så godt synlig neste gang partiklene ble mikroskopert. Det er rimelig å anta at partiklene som ses i mikroskopbildene har en innskrumpet form, med partikler med original form i mindretall. Dette kan være en effekt av fuktemiddelet, men det er vanskelig å få gode bilder av partiklene ved mikroskopering i luft, da det blir forstyrrelser på grunn av luften på overflaten.

7.4.2 Mikroskopbilder og størrelse

Partiklene var kuleformet og mer eller mindre sammenklappet. Ut fra bildene så det ut til at mikrosfærene i prøve 8 var fortsatt kuleformet.

Bildene bekrefter størrelsesanalysen, selv om det er usikkert spesielt på målingene med median rundt 10 og 11 μm . Siden det er mulig at partiklene skrumper inn, kan dette få konsekvenser for størrelsesmålingen med Lasentec®. Partiklene hadde ikke klappet helt sammen ut fra bildene, og de vil fortsatt kunne reflektere laserstrålen og gi et ganske riktig bilde av størrelsen. Det er mulig at etanol som medium for partikkelstørrelsesmåling på pektin ikke er så egnet, men at et annet medium, som for eksempel en olje, kunne vært bedre.

Prøvene ble også tillaget på en måte slik at det var områder på prøveglasset med veldig stor tetthet av partikler. Bildene ble tatt i områder med færre partikler, og det kan være at bildene ikke viser en sann størrelsesfordeling.

Prøve 10 og 19 skilte seg ut som store på bildene, og om man sammenligner med lineær størrelsesfordeling (vedlegg side 78 og 81) skiller også formen på denne fordelingen seg ut. Moden var ganske lik i prøvene, men bildene beviser at det finnes enkeltpartikler som er klart større enn moden i prøve 10 og 19. Disse to prøvene skilte seg ut med stor median, og dermed kan aggregatdannelse avskrives som en grunn for stor median.

8 Konklusjon

Prosessparameterne som bestemte utbyttet var konsentrasjon på pektinløsningen, om pektin var amidert eller ikke, og en samspillseffekt mellom temperatur og viftehastighet. Alle parameterne hadde positiv effekt på utbyttet, selv om utbyttet var ganske lavt.

Den kombinasjonen som ga størst størrelse var høy temperatur, høy konsentrasjon på løsningen, høy pumpehastighet og amidering av pektin.

NIRS på suspensjonen ga ni signifikante regresjonskoeffisienter som var i stand til å forklare størrelse. Men NIRS på suspensjon er ikke en enklere metode å måle størrelse på enn Lasentec®, der den både er mer tids- og arbeidskrevende. Det hadde derfor vært en fordel med en metode for å relatere størrelse til diffus refleksjon siden denne er rask og ikke ødelegger prøven. Men diffus refleksjon ga ingen signifikante variabler for å forklare størrelse i denne sammenhengen.

Mikroskopbildene ga begrenset informasjon om størrelsen, men kunne bekrefte størrelsesfordelingen for prøvene med minst og størst størrelse. Partiklene var runde, men var noe deformert, som kan skyldes fuktemiddelet.

9 Referansliste

1. Yang, L., J.S. Chu, and J.A. Fix, *Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation*. International Journal of Pharmaceutics, 2002. **235**(1-2): p. 1-15.
2. Saffran, M., et al., *A New Approach to the Oral Administration of Insulin and Other Peptide Drugs*. Science, 1986. **233**(4768): p. 1081-1084.
3. Fix, J.A., *Oral Controlled Release Technology for Peptides: Status and Future Prospects*. Pharmaceutical Research, 1996. **13**(12): p. 1760-1764.
4. Chourasia, M.K. and S.K. Jain, *Polysaccharides for Colon Targeted Drug Delivery*. Drug Delivery, 2004. **11**: p. 129-148.
5. Friend, D.R., *Colon-Specific Drug Delivery*. Advanced Drug Delivery Reviews, 1991. **7**(1): p. 149-199.
6. Lee, V.H.L. and J.J. Yang, *Oral Drug Delivery*, in *Drug Delivery and Targeting*, A.M. Hillery, A.W. Lloyd, and J. Swarbrick, Editors. 2001, Taylor and Francis: London. p. 152.
7. Vandamme, T.F., et al., *The use of polysaccharides to target drugs to the colon*. Carbohydrate Polymers, 2001. **48**(3): p. 219-231.
8. Rubenstein, A., et al., *in vitro Evaluation of Calcium Pectinate: A Potential Colon-Specific Drug Delivery Carrier*. Pharmaceutical Research, 1993. **10**(2).
9. Tozaki, H., et al., *Colon-specific Delivery of Budenoside with Azopolymer-coated Pellets: Therapeutic Effects of Budenoside with Novel Dosage Form against 2,4,6-Trinitrobenzenesulphonic Acid-induced Colitis in Rats*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1999. **51**(3): p. 257-261.
10. Xu, C., et al., *Calcium Pectinate Capsules for Colon-Specific Drug Delivery*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2005. **31**: p. 127-134.
11. Wakerly, Z., et al., *Studies on amidated pectins as potential carriers in colonic drug delivery*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1997. **49**: p. 622-625.
12. El-Gibaly, I., *Oral delayed-release system based on Zn-pectinate gel (ZPG) microparticles as an alternative carrier to calcium pectinate beads for colonic drug delivery*. International Journal of Pharmaceutics, 2002. **232**: p. 199-211.
13. Oakenfull, D.G., *The Chemistry of High-Methoxyl Pectins*, in *The Chemistry and Technology of Pectin*, R.H. Walter, Editor. 1991, Academic Press, Inc.: San Diego. p. 87-93.
14. Van Buren, J.P., *Function of Pectin in Plant Tissue and Firmness*, in *The Chemistry and Technology of Pectin*, R.H. Walter, Editor. 1991, Food Science and Technology. p. 2-5.
15. Dobrowolski, G. 2004 [cited 2006 06.12]; Available from: <http://tinyurl.com/y3tdes>.
16. Sakai, T., et al., *Pectin, Pectinase and Propectinase: Production, Properties, and Applications*. Advances in Applied Microbiology, 1993. **39**: p. 213-294.
17. Thakur, B.R., R.K. Singh, and A.K. Handa, *Chemistry and Uses of Pectin - A review*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1997. **37**(1): p. 47-73.
18. Obipektin. 2006 [cited 2006 26.10]; Available from: <http://tinyurl.com/yxh5fz>.
19. Pilgrim, G.W., R.H. Walter, and D.G. Oakenfull, *Jams, Jellies, and Preserves*, in *The Chemistry and Technology of Pectin*, R.H. Walter, Editor. 1991, Academic press, Inc.: San Diego. p. 27.
20. Aulton, M.E., *Drying*, in *Pharmaceutics -The Science of Dosage Form Design*, M.E. Aulton, Editor. 2002, Churchill Livingstone: Edinburgh. p. 389-390.

21. Rowe, R.C., P.J. Sheskey, and P.J. Weller, *Lactose*, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 2003, Pharmaceutical Press: London. p. 323-331.
22. Elversson, J., et al., *Droplet and Particle Size Relationship and Shell Thickness of Inhalable Lactose Particles during Spray Drying*. *Journal of Pharmaceutical Science*, 2003. **92**(4): p. 900-910.
23. Elversson, J. and A. Millqvist-Fureby, *Particle Size and Density in Spray Drying - Effects of Carbohydrate Properties*. *Journal of Pharmaceutical Science*, 2005. **94**(9): p. 2049-2060.
24. Lee, C.-M., et al., *Pectin Microspheres for Oral Colon Delivery: Preparation Using Spray Drying Method and In Vitro Release of Indomethacin*. *Biotechnology and Bioengineering*, 2004. **9**(3): p. 191-195.
25. Giunchedi, P., et al., *Pectin microspheres as ophthalmic carriers for piroxicam: evaluation in vitro and in vivo in albino rabbits*. *European Journal of Pharmaceutical Science*, 1999. **9**: p. 1-7.
26. Orhan, Z., et al., *The preparation of ciprofloxacin hydrochloride-loaded chitosan and pectin microspheres their evaluation in an animal osteomyelitis model*. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 2006. **88-b**(2): p. 270-275.
27. LabPlant, *LabPlant Quality, Safety & Innovation*. 2003.
28. Keey, R.B., *Atomization of spray-dryer feedstock*. *Advances in drying*, 1992: p. 11-75.
29. Monsoor, M.A., *Effect of drying methods on the functional properties of soy hull pectin*. *ScienceDirect - Carbohydrate Polymers*, 2005. **61**(3): p. 362-367.
30. Florence, A.T. and D. Attwood, *Polymers and Macromolecules*, in *Physiochemical Principles of Pharmacy*. 1998, Palgrave. p. 311-315.
31. Aulton, M.E., *Rheology*, in *Pharmaceutics -The Science of Dosage Form Design*, C. Marriott, Editor. 2002, Churchill Livingstone: Edinburgh. p. 43-44.
32. Elias, H.-G., *Molar Mass Dependence*, in *An Introduction to Polymer Science*. 1997, VCH Verlagsgesellschaft mbH: Weinheim. p. 203-205.
33. Walter, R.H., *Analytical and Graphical Methods for Pectin*, in *The Chemistry and Technology of Pectin*, R.H. Walter, Editor. 1991, Academic Press, Inc: San Diego. p. 206-207.
34. Staniforth, J., *Particle-size analysis*, in *Pharmaceutics*, M.E. Aulton, Editor. 2002, Churchill Livingstone: Edinburgh. p. 152-165.
35. MettlerToledo. *PAT Training Course - Light scattering*. 2006 [cited 2006 01.11]; Available from: <http://tinyurl.com/yxlm7l>.
36. MettlerToledo. *Lasentec D600*. 2006 24.11.2006 [cited; Available from: <http://tinyurl.com/y7bkdk>.
37. Lasentec. *FRBM detailed principle*. 2006 [cited 2006 24.22.2006]; Available from: <http://tinyurl.com/y873nu>.
38. Pedersen-Bjergaard, S. and K.E. Rasmussen, *NIR-spektroskopi*, in *Legemiddelanalyse*. 2004, Fagbokforlaget: Oslo. p. 119-123.
39. Skoog, D.A. and J.J. Leary, *Infrared Absorption Spectroscopy*, in *Principles of Instrumental Analysis*. 1992, Saunders College Publishing: Fort Worth. p. 285-287.
40. Ciurczak, E.W., *Handbook of Near-Infrared Analysis*, in *Practical Spectroscopy*, D.A. Burns and E.W. Ciurczak, Editors. 1992, Marcel Dekker, Inc.: New York. p. 549-563.
41. Skoog, D.A. and J.J. Leary, *Automated Methods of Analysis*, in *Principles of Instrumental Analysis*. 1992, Saunders College Publishing: Fort Worth. p. 698.
42. Skoog, D.A. and J.J. Leary, *An Introduction to Molecular Ultraviolet/Visible and Near Infrared Absorption Spectroscopy*, in *Principles of Instrumental Analysis*. 1992, Saunders College Publishing: Fort Worth. p. 123-124.

43. Pedersen-Bjergaard, S. and K.E. Rasmussen, *IR-spektroskopi*, in *Legemiddelanalyse*. 2004, Fagbokforlaget: Oslo. p. 109-110.
44. Esbensen, K.H., *Introduction to Experimental Design*, in *Multivariate Data Analysis - In practice, An Introduction to Multivariate Analysis - In practice*. 1994, CAMO Process AS: Oslo. p. 361-446.
45. Esbensen, K.H., *Complex Experimental Design Problems*, in *Multivariate Data Analysis - In practice, An Introduction to Multivariate Analysis - In practice*. 1994, Camo: Oslo. p. 447-460.
46. Esbensen, K.H., *Principal Component Analysis (PCA) - Introduction*, in *Multivariate Data Analysis - In Practice, An Introduction to Multivariate Analysis - In practice*. 1994, CAMO Process AS: Oslo. p. 19-65.
47. Esbensen, K.H., *Multivariate Calibration (PCR/PLS)*, in *Multivariate Data Analysis - In Practice, An Introduction to Multivariate Data Analysis and Experimental Design*. 1994, CAMO Process AS: Oslo. p. 115-144.
48. Esbensen, K.H., *Multivariate Data Analysis - in Practice: Miscellaneous Issues*, in *Multivariate Data Analysis - In Practice, An introduction to Multivariate Data Analysis and Experimental design*. 1994, CAMO Process AS: Oslo. p. 215-220.
49. Hiorth, M., I. Tho, and S.A. Sande, *The formation and permeability of drugs across free pectin and chitosan films prepared by a spraying method*. *European Journal of Pharmaceutical Science*, 2003. **56**: p. 175-182.
50. Askew, A., *Elektronisk post kommunikasjon*. 06.04.2006.
51. Askew, A., *Elektronisk post kommunikasjon*. 07.12.2006.
52. Askew, A., *Elektronisk post kommunikasjon*. 24.01.2006.
53. Berntsson, O., L.-G. Danielsson, and S. Folestad, *Estimation of effective sample size when analysing powders with diffuse reflectance near-infrared spectrometry*. *Analytica Chemical Acta*, 1998. **364**: p. 243-251.

10 Vedlegg

Fra 6.2.1 Resultat av observering av fuktighet i oppsamlingsbeholder. + betyr observert kondens

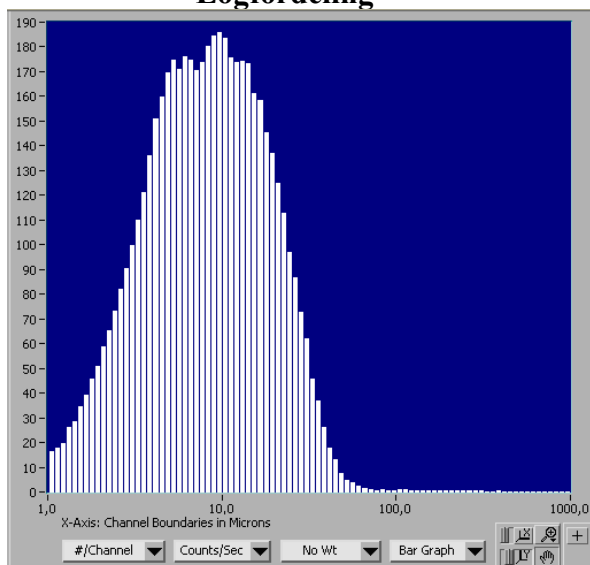
Temperatur	Viftehastighet	Pumpehastighet																	
130 °C	1	4	+	5	+	6	+	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
130 °C	5	4	-	5	-	6	+	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
130 °C	10	4	-	5	-	6	+	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
130 °C	15	4	-	5	-	6	+	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
130 °C	20	4	-	5	-	6	-	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
130 °C	25	4	-	5	-	6	-	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
130 °C	30	4	-	5	-	6	-	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
130 °C	35	4	-	5	-	6	-	7	-	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
130 °C	40	4	-	5	-	6	-	7	-	8	-	9	+	10	+	11	+	12	+
130 °C	45	4	-	5	-	6	-	7	-	8	-	9	-	10	+	11	+	12	+
130 °C	50	4	-	5	-	6	-	7	-	8	-	9	-	10	-	11	+	12	+

Temperatur	Viftehastighet	Pumpehastighet																	
190 °C	1	4	-	5	+	6	+	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
190 °C	5	4	-	5	+	6	+	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
190 °C	10	4	-	5	-	6	+	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
190 °C	15	4	-	5	-	6	+	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
190 °C	20	4	-	5	-	6	-	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
190 °C	25	4	-	5	-	6	-	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
190 °C	30	4	-	5	-	6	-	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
190 °C	35	4	-	5	-	6	-	7	-	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+
190 °C	40	4	-	5	-	6	-	7	-	8	-	9	+	10	+	11	+	12	+
190 °C	45	4	-	5	-	6	-	7	-	8	-	9	-	10	-	11	+	12	+
190 °C	50	4	-	5	-	6	-	7	-	8	-	9	-	10	-	11	-	12	+

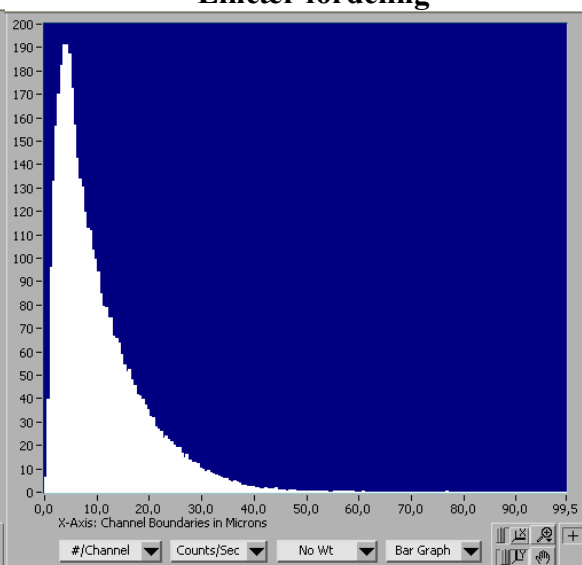
Temperatur	Viftehastighet	Pumpehastighet																					
250 °C	1	6	+	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+	13	+	14	+	15	+	16	+
250 °C	5	6	-	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+	13	+	14	+	15	+	16	+
250 °C	10	6	-	7	+	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+	13	+	14	+	15	+	16	+
250 °C	15	6	-	7	-	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+	13	+	14	+	15	+	16	+
250 °C	20	6	-	7	-	8	+	9	+	10	+	11	+	12	+	13	+	14	+	15	+	16	+
250 °C	25	6	-	7	-	8	-	9	+	10	+	11	+	12	+	13	+	14	+	15	+	16	+
250 °C	30	6	-	7	-	8	-	9	-	10	+	11	+	12	+	13	+	14	+	15	+	16	+
250 °C	35	6	-	7	-	8	-	9	-	10	-	11	+	12	+	13	+	14	+	15	+	16	+
250 °C	40	6	-	7	-	8	-	9	-	10	-	11	-	12	-	13	+	14	+	15	+	16	+
250 °C	45	6	-	7	-	8	-	9	-	10	-	11	-	12	-	13	-	14	+	15	+	16	+
250 °C	50	6	-	7	-	8	-	9	-	10	-	11	-	12	-	13	-	14	-	15	-	16	+

Fra 6.4.1 Størrelsesfordeling

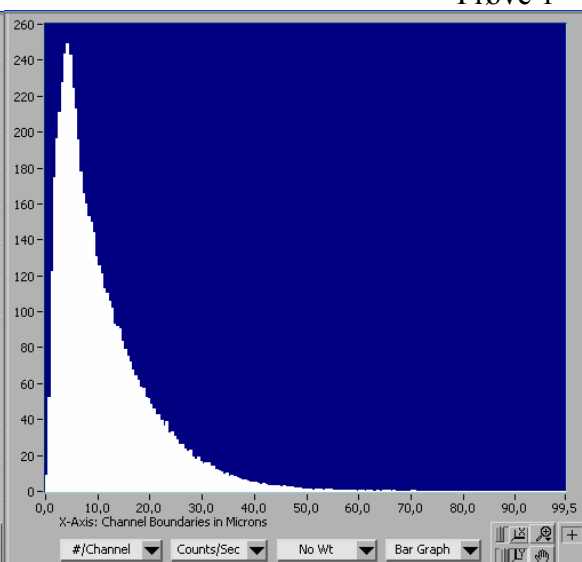
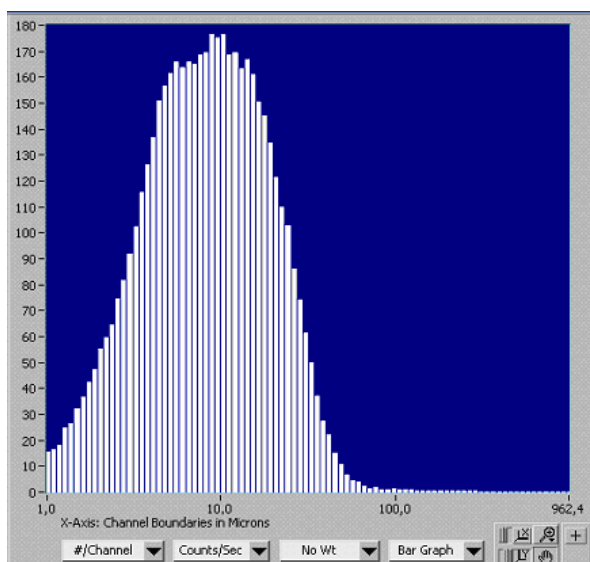
Logfordeling



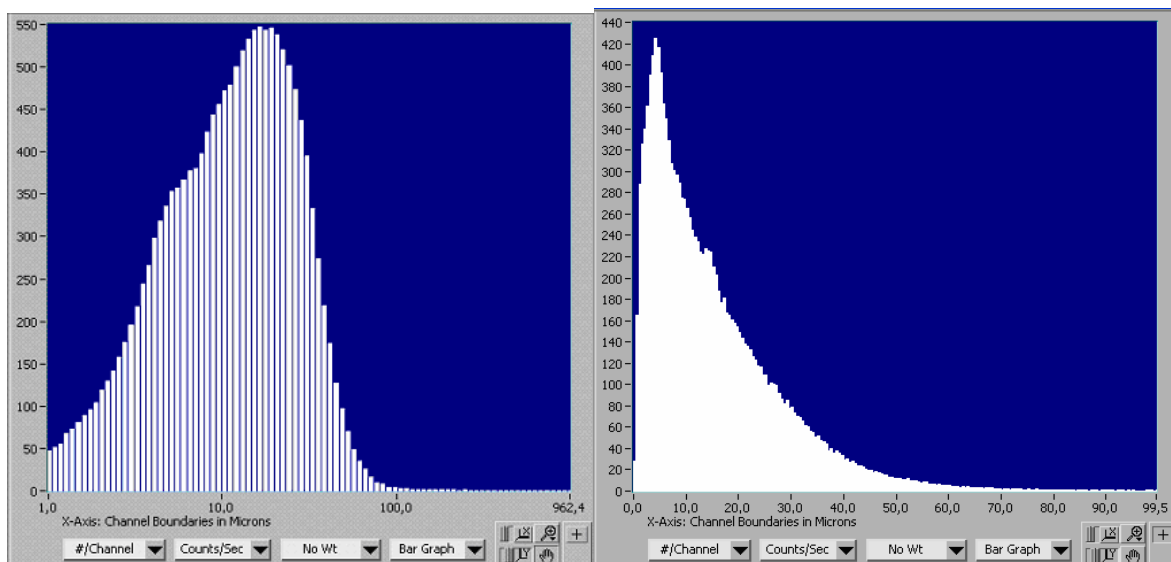
Lineær fordeling



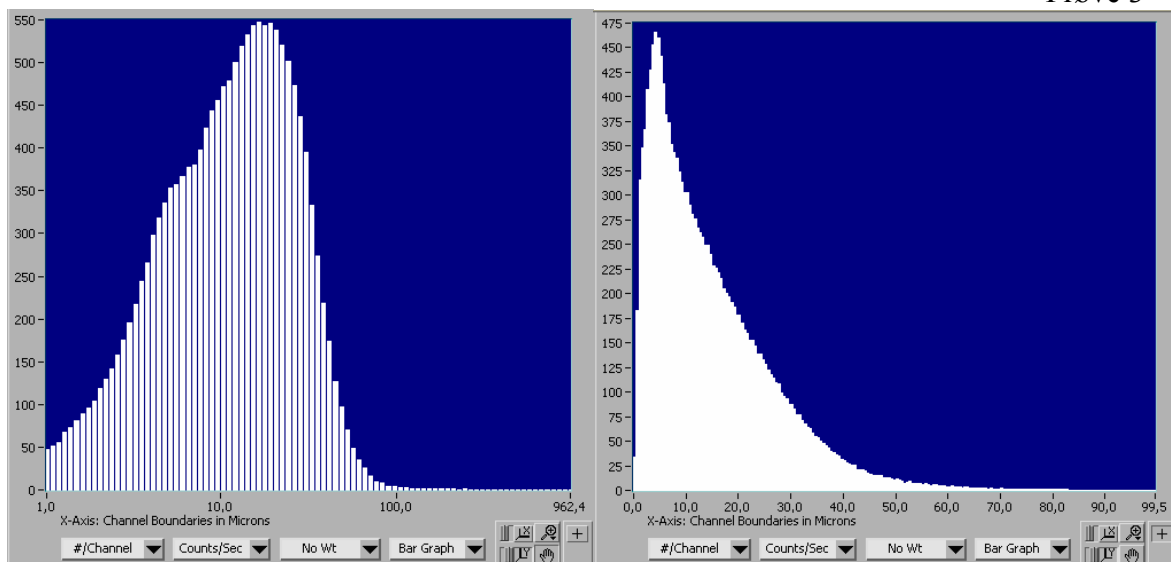
Prøve 1



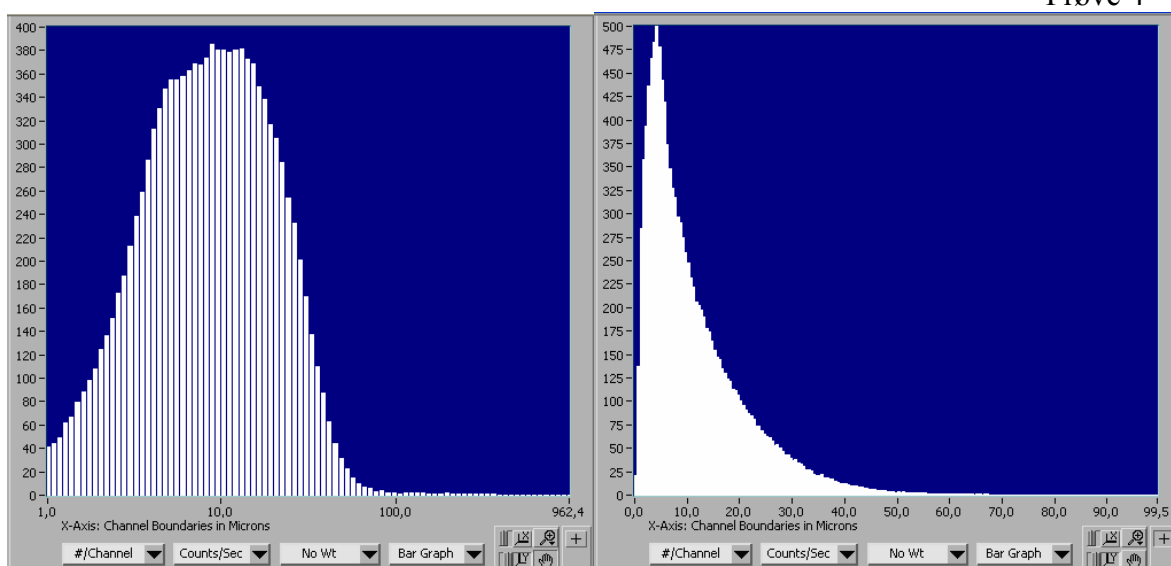
Prøve 2



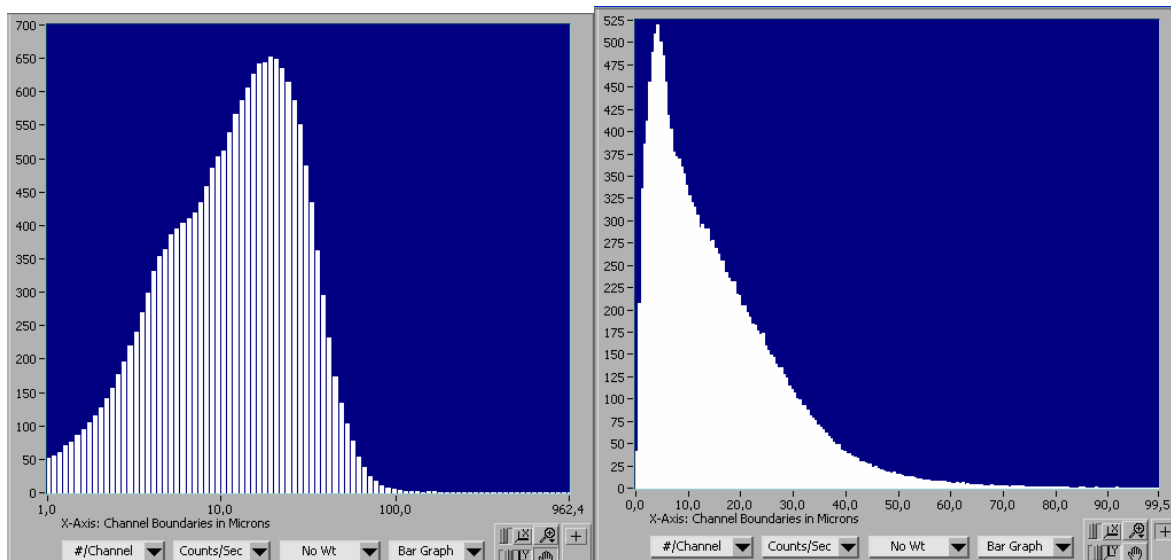
Prøve 3



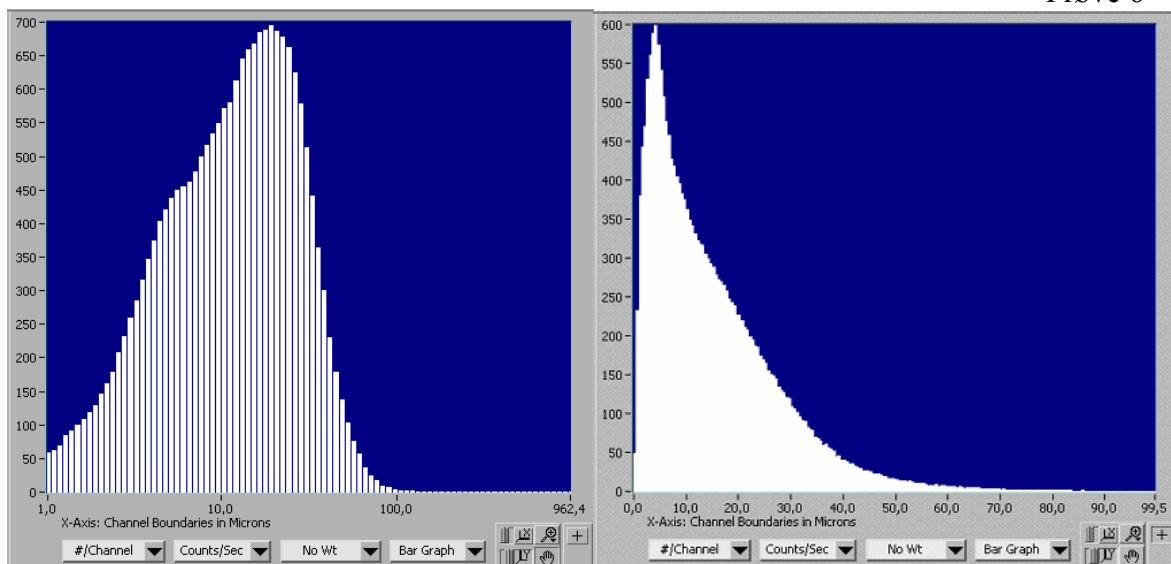
Prøve 4



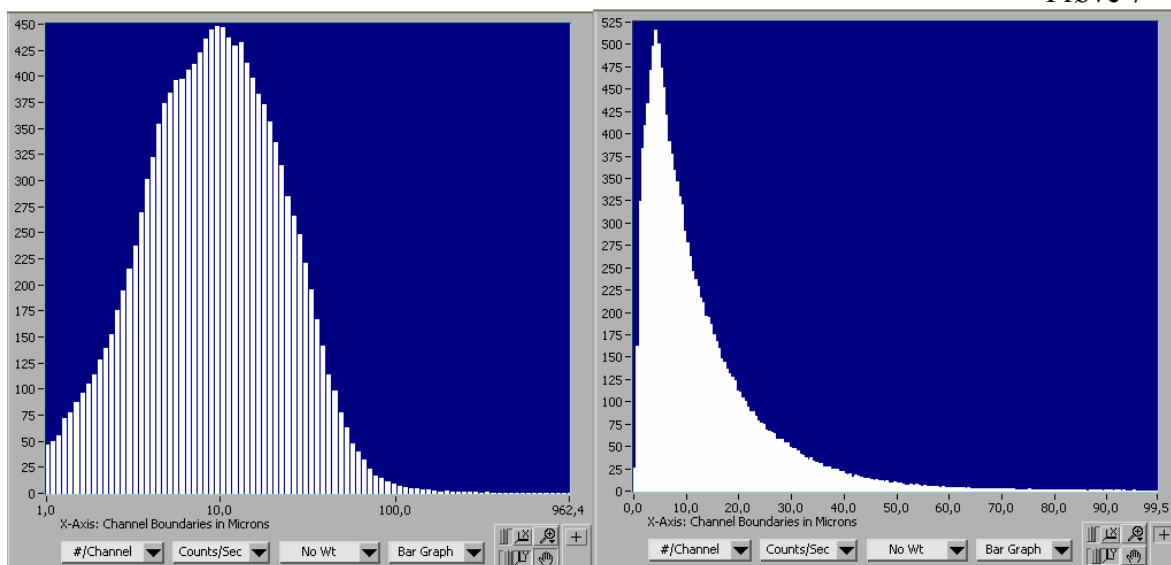
Prøve 5



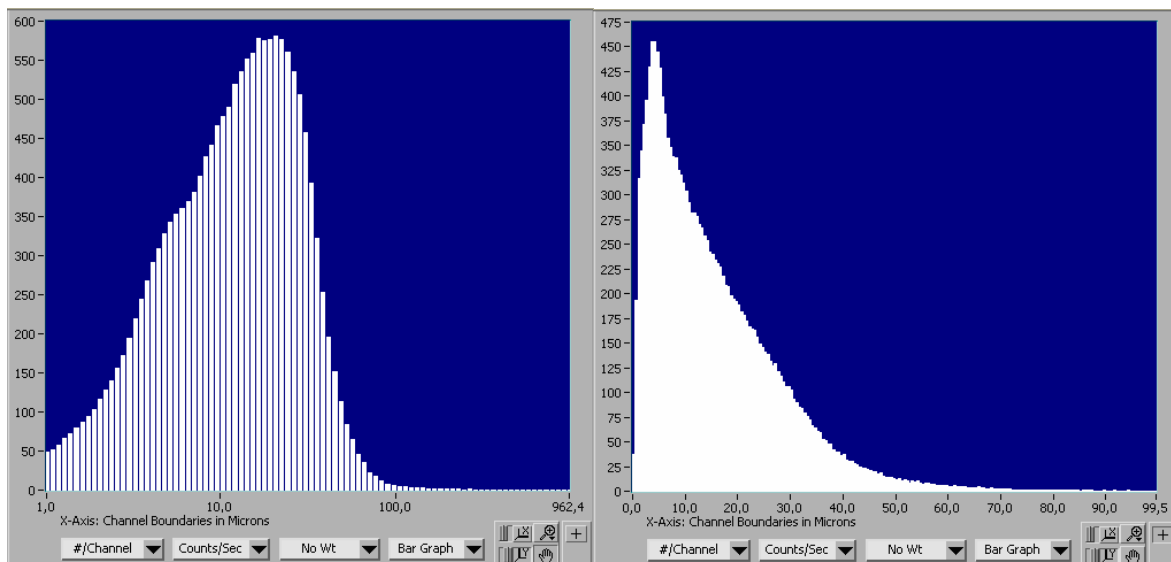
Prøve 6



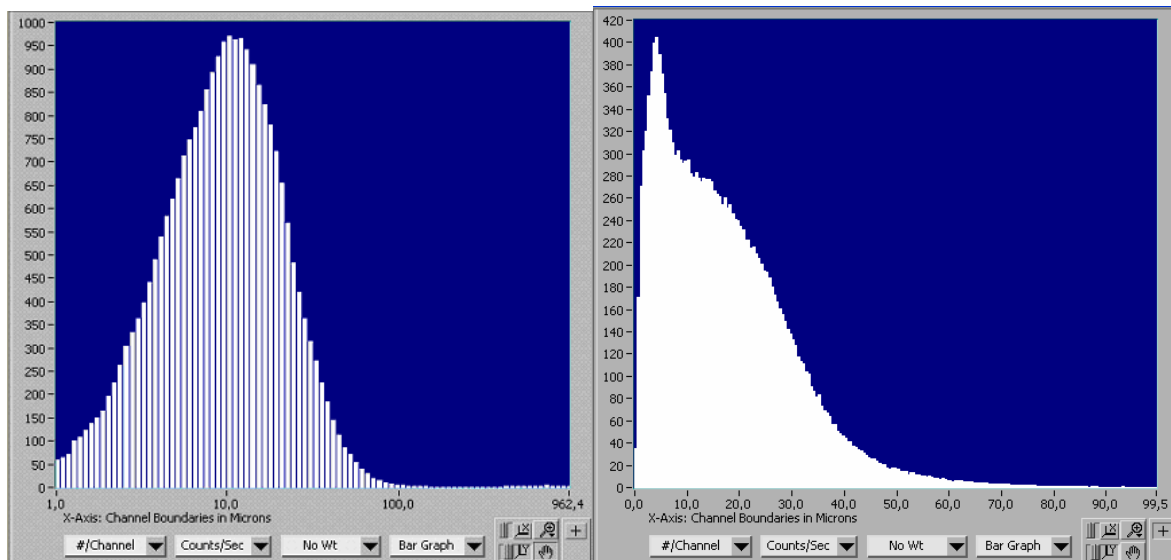
Prøve 7



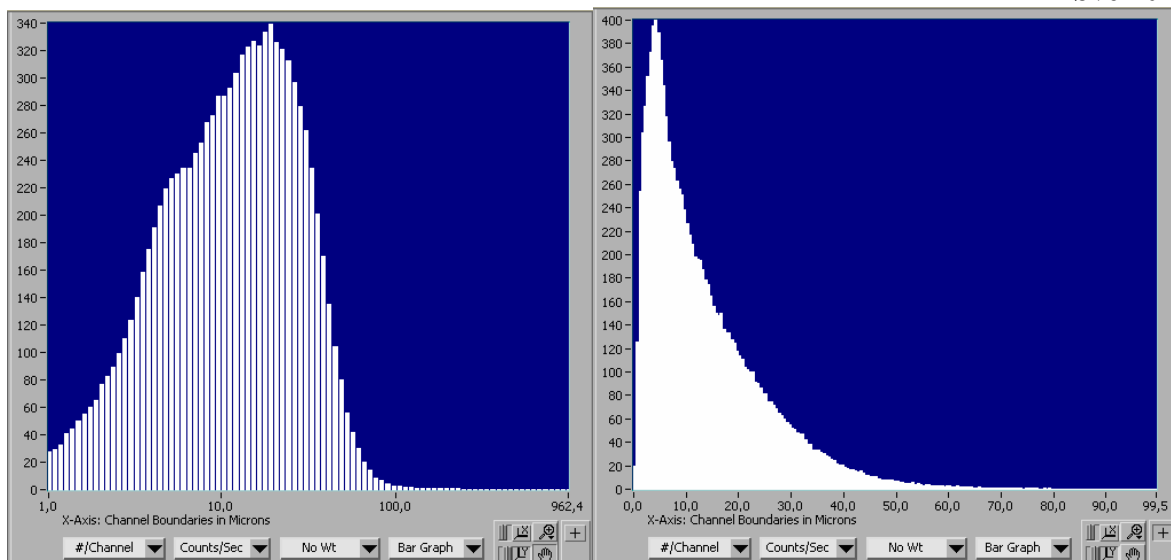
Prøve 8



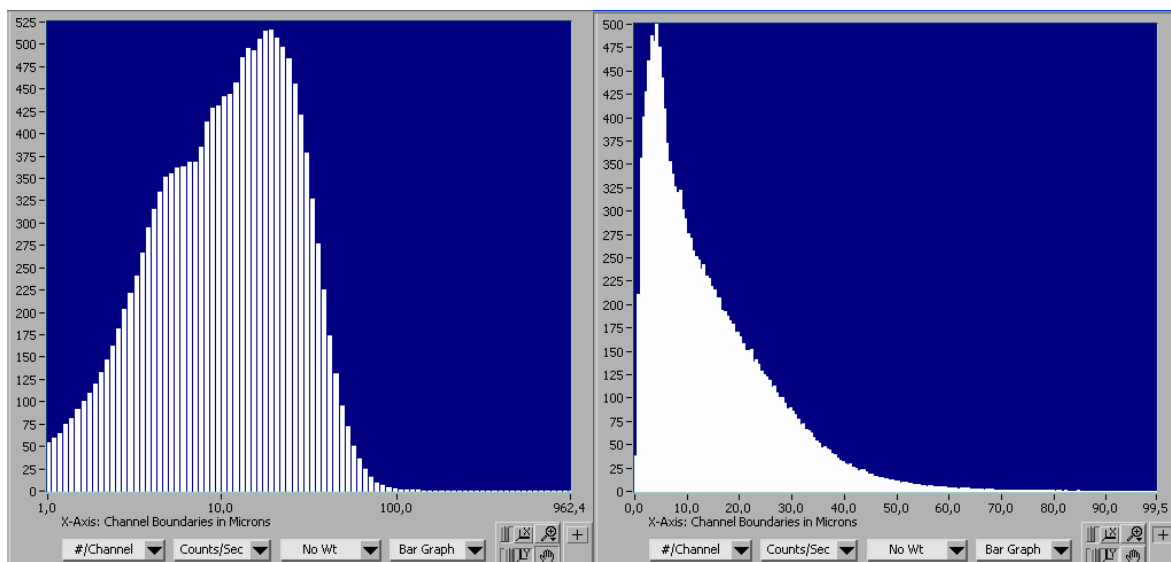
Prøve 9



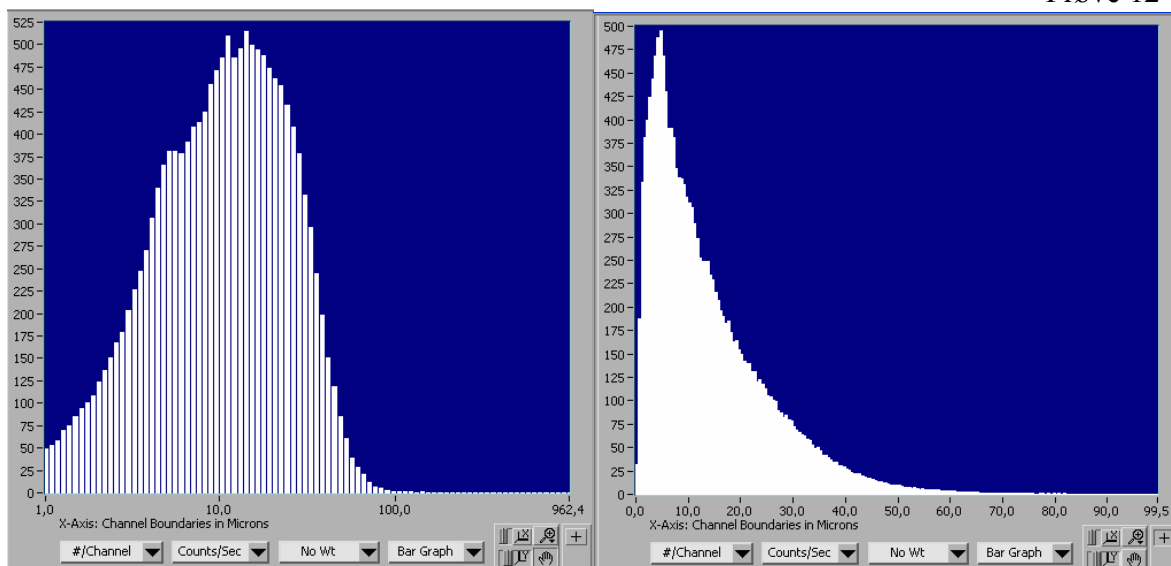
Prøve 10



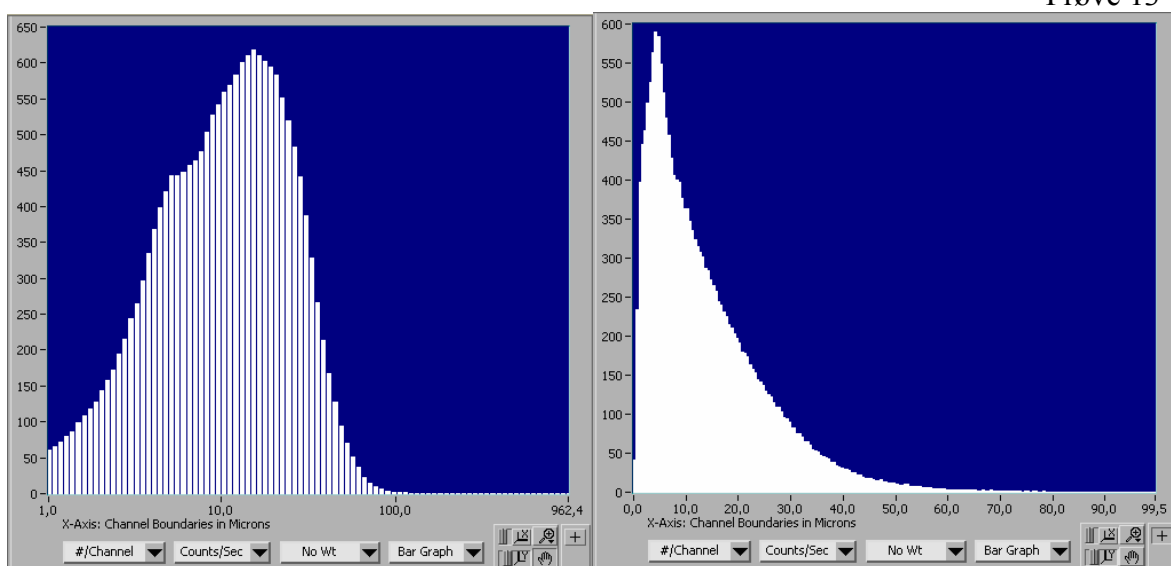
Prøve 11



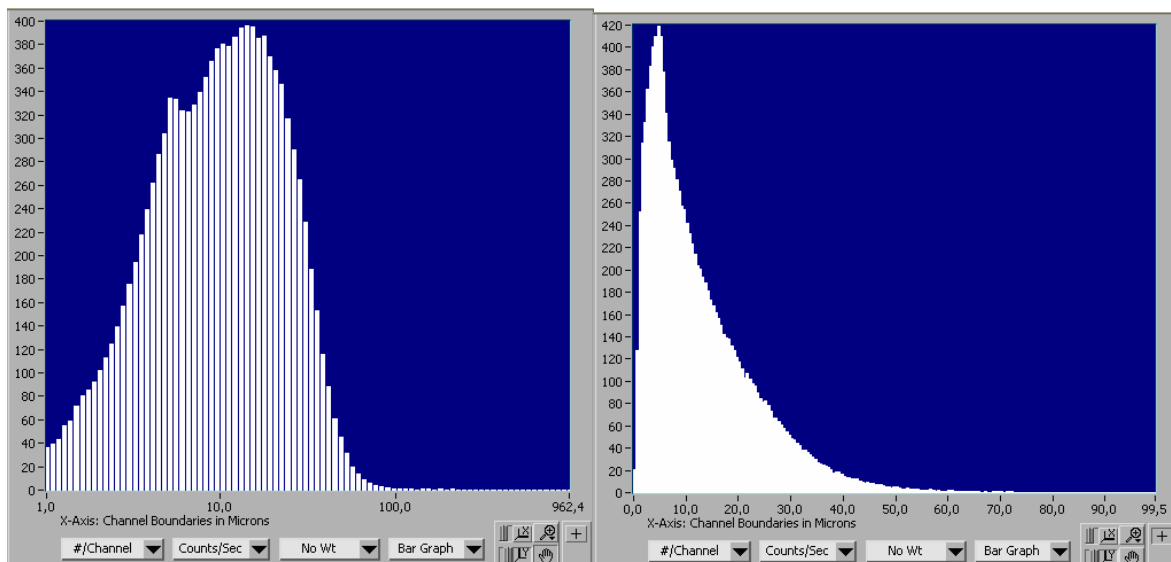
Prøve 12



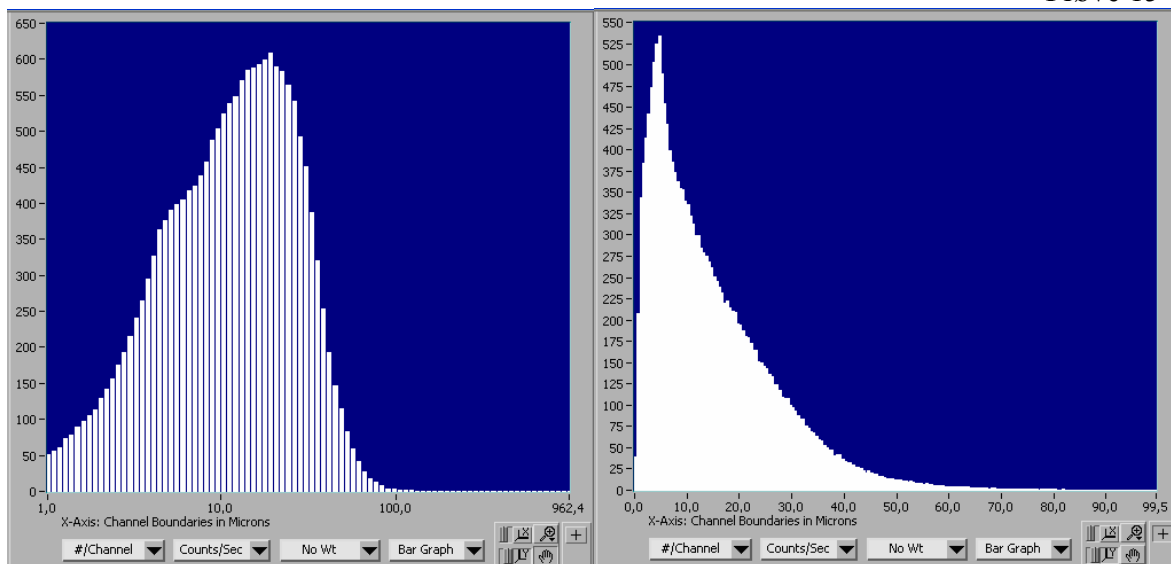
Prøve 13



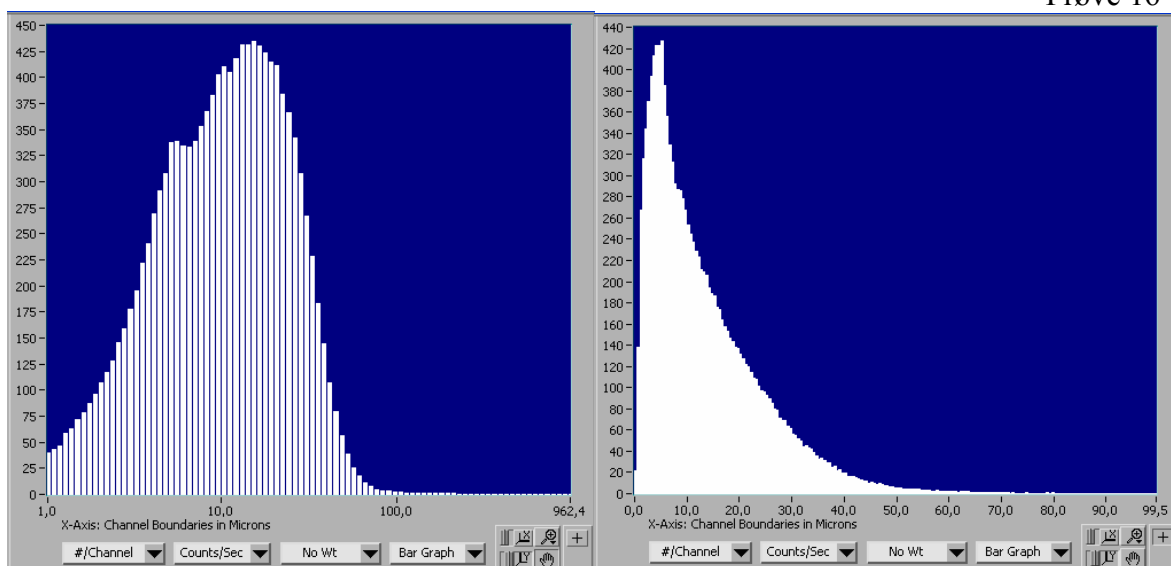
Prøve 14



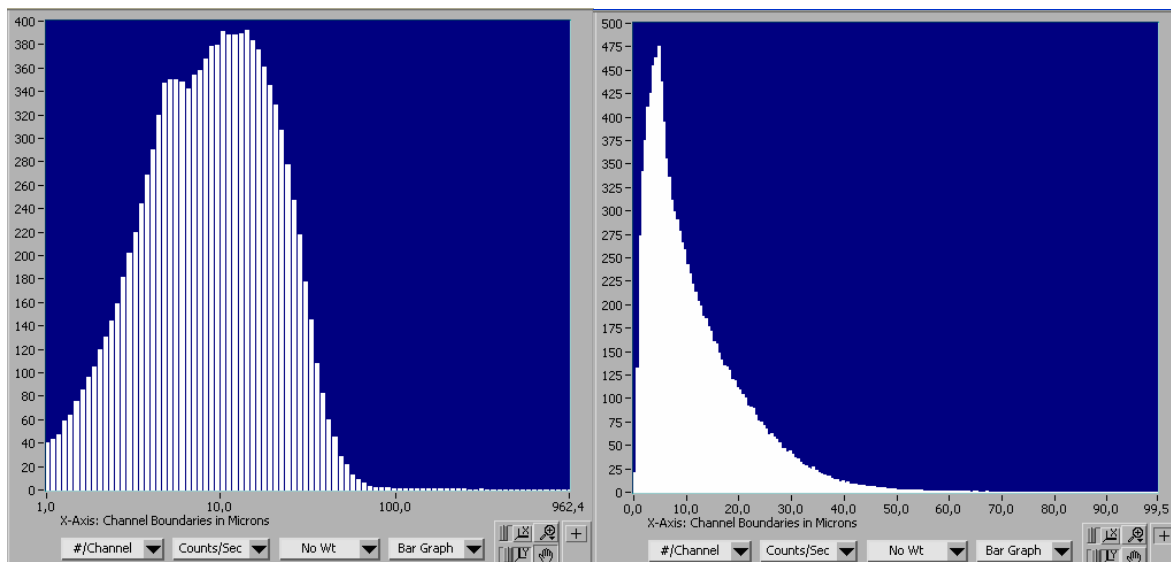
Prøve 15



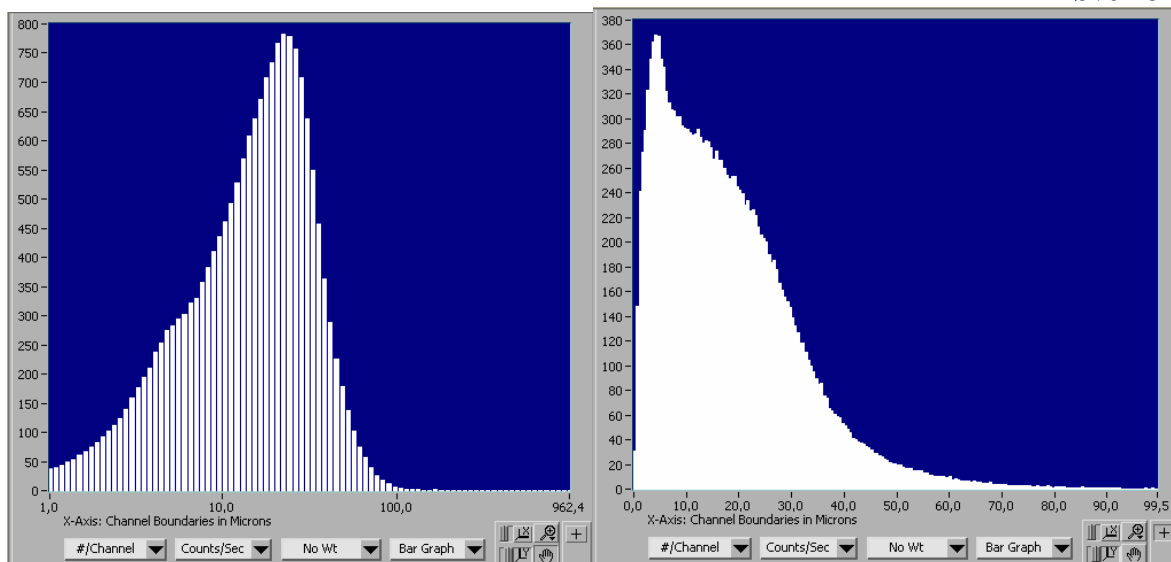
Prøve 16



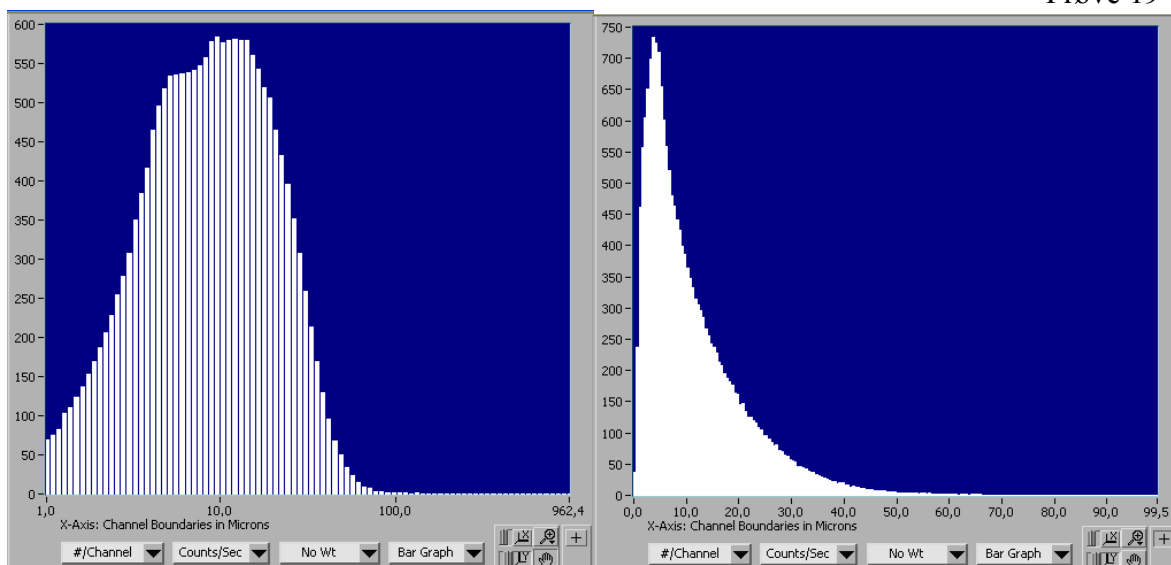
Prøve 17



Prøve 18



Prøve 19

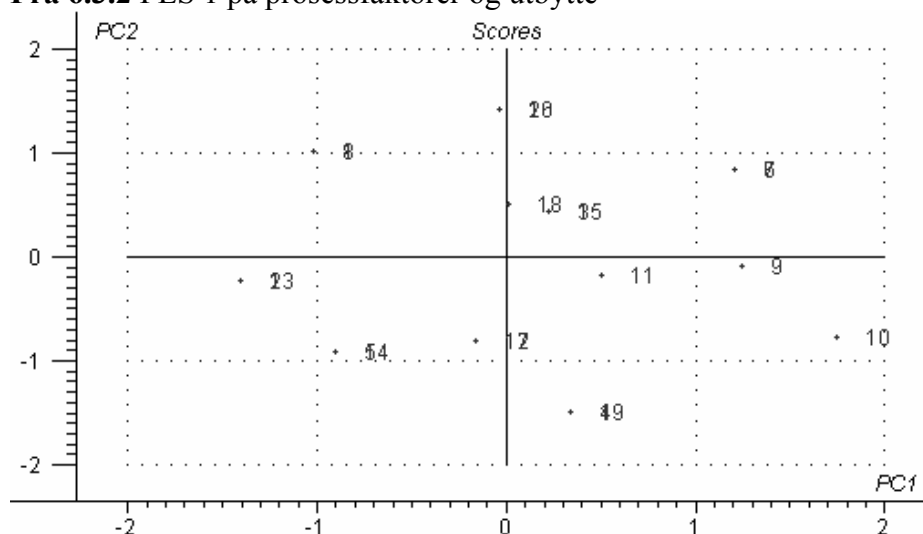


Prøve 20

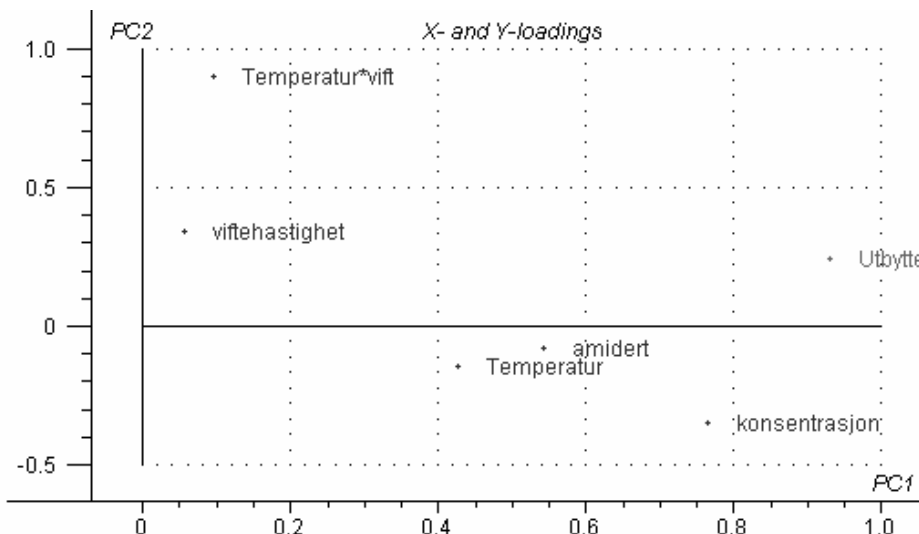
Fra kapittel 6: Samlet tabell over resultatene. Størrelsesmålene er oppgitt i μm , bortsett fra IQCS

Navn	Temperatur	Konsentrasjon	Pumpehastighet	Viftehastighet	Metoksylering	Amidering	Utbytte (g)	Utbytte (%)	Gjennomsnitt	c 25	Median	c 75	IQCS
1	130	1	1	10	70	Nei	2,8	14,0	26,25 \pm 0,25	4,29 \pm 0,07	7,82 \pm 0,14	14,05 \pm 0,19	0,28 \pm 0,01
18	130	1	1	30	29	Ja	3,3	16,5	27,77 \pm 0,11	4,74 \pm 0,01	9,05 \pm 0,03	16,43 \pm 0,03	0,26 \pm 0,00
8	130	1	5	10	35	Nei	2,6	13,0	37,21 \pm 0,20	4,86 \pm 0,03	9,18 \pm 0,05	17,12 \pm 0,05	0,29 \pm 0,00
2	130	1	5	30	70	Nei	2,3	11,5	28,11 \pm 0,15	4,60 \pm 0,03	8,45 \pm 0,04	15,11 \pm 0,08	0,27 \pm 0,00
13	130	1	5	30	50	Nei	1,1	5,5	32,12 \pm 0,05	5,45 \pm 0,01	10,86 \pm 0,05	19,61 \pm 0,04	0,24 \pm 0,01
15	130	3	1	10	35	Nei	3,5	17,5	29,71 \pm 0,09	5,14 \pm 0,02	10,05 \pm 0,03	18,15 \pm 0,05	0,25 \pm 0,00
17	130	3	1	30	50	Nei	3,5	17,5	30,56 \pm 0,10	5,30 \pm 0,03	10,52 \pm 0,06	18,95 \pm 0,08	0,24 \pm 0,00
12	130	3	1	30	70	Nei	1,6	8,0	33,24 \pm 0,05	5,38 \pm 0,02	11,41 \pm 0,03	20,90 \pm 0,04	0,22 \pm 0,00
3	130	3	5	10	70	Nei	3,4	17,0	36,01 \pm 0,24	5,75 \pm 0,02	11,86 \pm 0,08	21,25 \pm 0,15	0,21 \pm 0,00
9	130	3	5	30	29	Ja	5,2	26,5	34,72 \pm 0,09	6,10 \pm 0,03	12,63 \pm 0,04	22,13 \pm 0,05	0,19 \pm 0,00
5	200	1	1	10	35	Nei	1,8	9,0	28,93 \pm 0,10	4,59 \pm 0,03	8,66 \pm 0,02	15,93 \pm 0,04	0,28 \pm 0,00
14	200	1	1	10	50	Nei	2,0	10,0	31,77 \pm 0,19	5,43 \pm 0,02	10,90 \pm 0,07	19,42 \pm 0,12	0,22 \pm 0,00
20	200	1	1	30	70	Nei	3,8	19,0	27,72 \pm 0,10	4,53 \pm 0,02	8,62 \pm 0,02	15,81 \pm 0,04	0,27 \pm 0,00
11	200	1	5	10	29	Ja	3,7	18,5	34,42 \pm 0,11	5,77 \pm 0,03	11,91 \pm 0,07	21,71 \pm 0,12	0,23 \pm 0,00
16	200	1	5	30	35	Nei	3,2	16,0	32,99 \pm 0,09	5,82 \pm 0,02	11,93 \pm 0,04	21,19 \pm 0,05	0,20 \pm 0,00
10	200	3	1	10	29	Ja	6,0	30,0	34,45 \pm 0,51	7,21 \pm 0,53	14,76 \pm 1,37	23,89 \pm 1,97	0,10 \pm 0,03
6	200	3	1	30	35	Nei	4,9	24,5	34,47 \pm 0,06	6,04 \pm 0,04	12,61 \pm 0,05	22,08 \pm 0,08	0,18 \pm 0,00
4	200	3	5	10	35	Nei	4,5	22,5	33,07 \pm 0,07	5,82 \pm 0,01	11,88 \pm 0,05	20,94 \pm 0,08	0,20 \pm 0,00
19	200	3	5	10	50	Nei	1,7	8,5	36,36 \pm 0,08	8,00 \pm 0,02	15,87 \pm 0,04	25,35 \pm 0,06	0,09 \pm 0,00
7	200	3	5	30	70	Nei	5,7	28,5	33,66 \pm 0,21	5,78 \pm 0,02	12,08 \pm 0,09	21,42 \pm 0,14	0,19 \pm 0,00

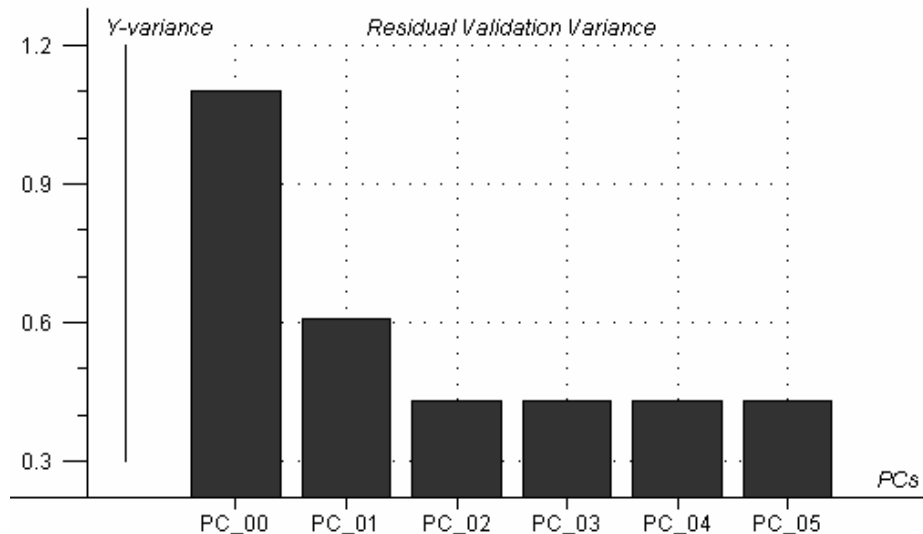
Fra 6.3.2 PLS 1 på prosessfaktorer og utbytte



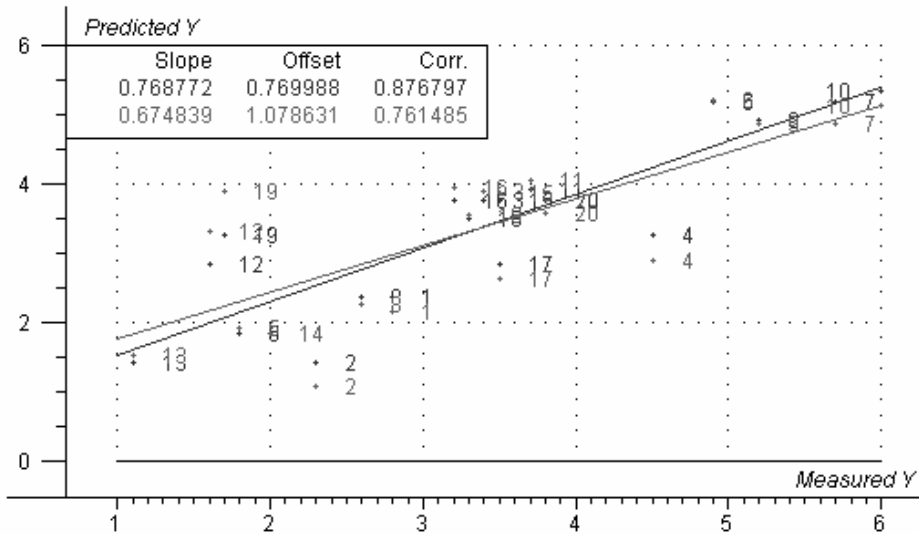
Utbytte prosess..., X-expl: 18%,19% Y-expl: 72%,5%



Utbytte prosess..., X-expl: 18%,19% Y-expl: 72%,5%

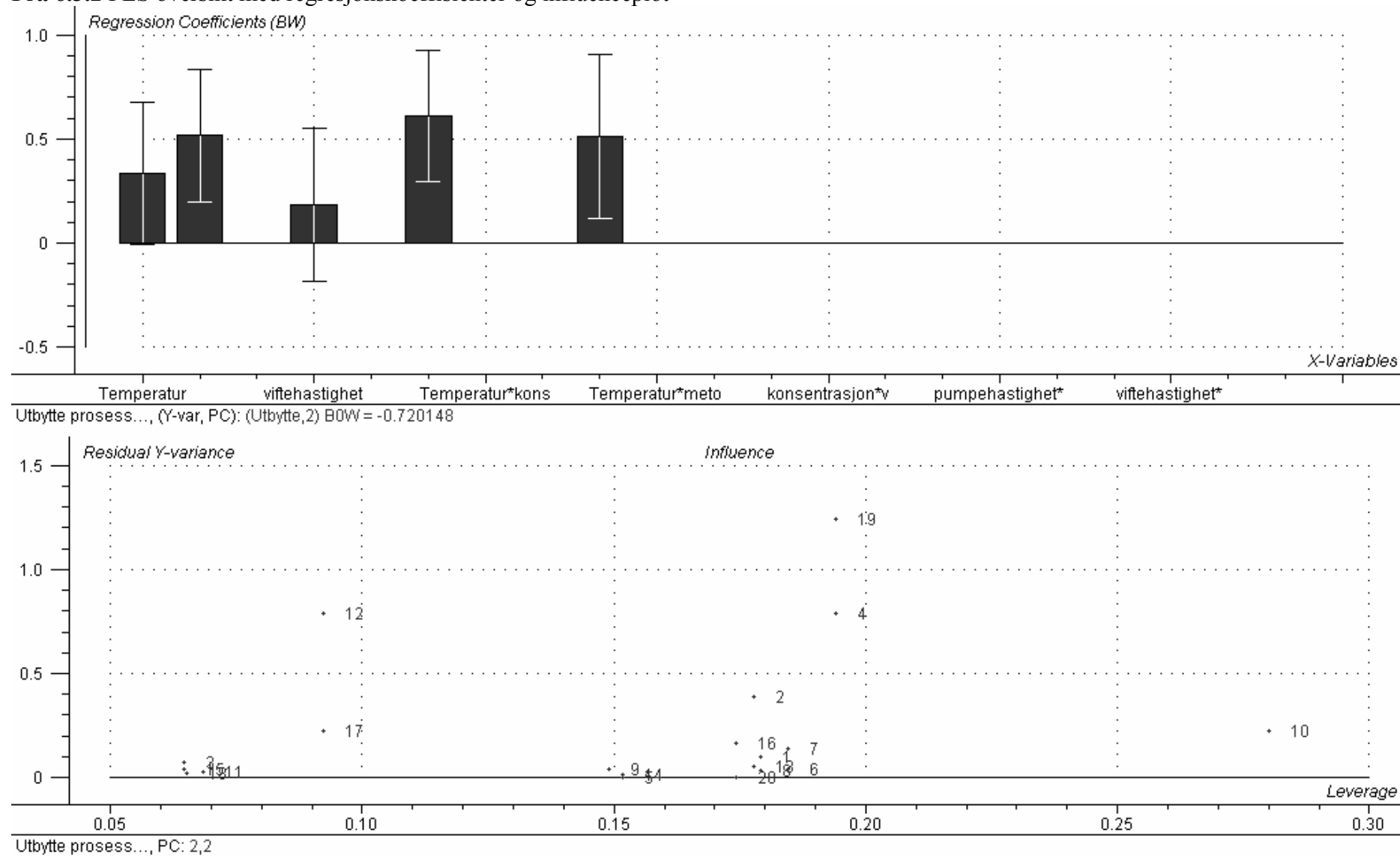


Utbytte prosess..., Variable: v.Total



Utbytte prosess..., (Y-var, PC): (Utbytte,2) (Utbytte,2)

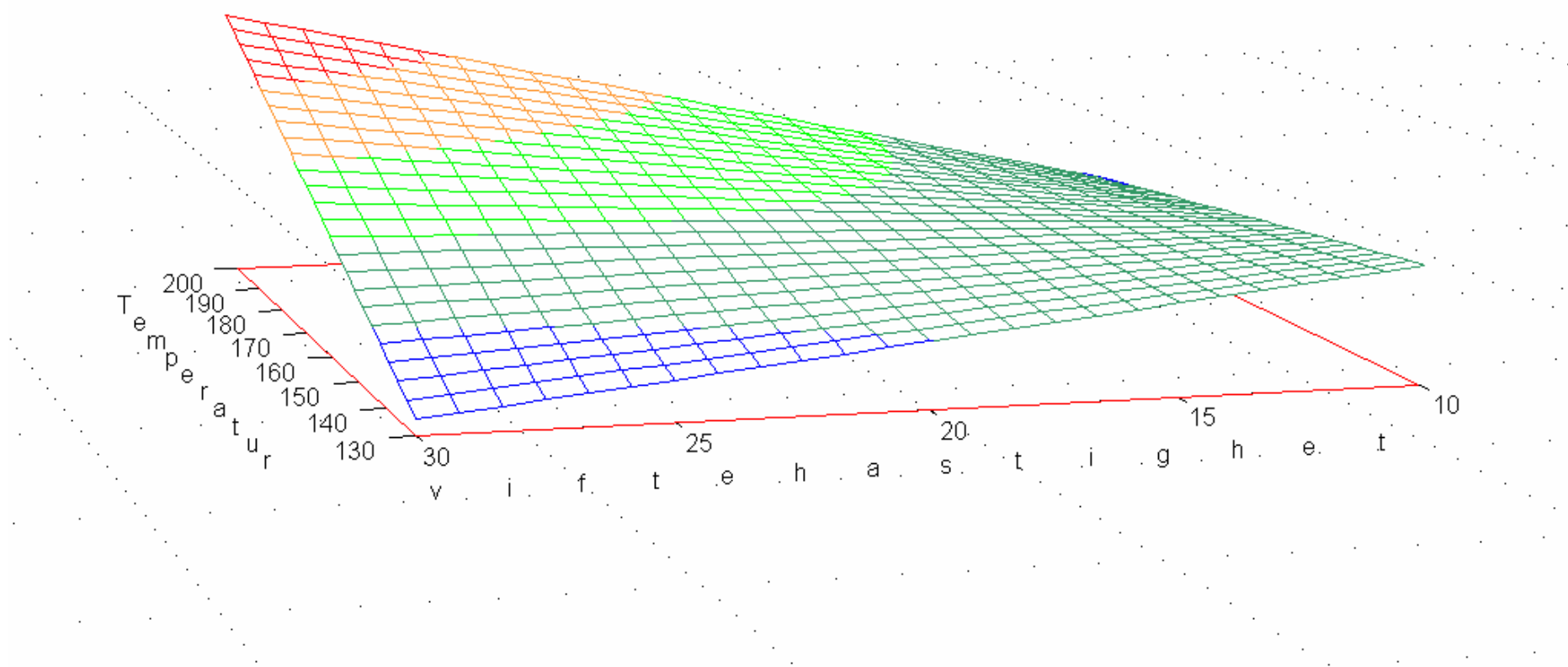
Fra 6.3.2 PLS oversikt med regresjonskoeffisienter og influenceplot



Fra 6.3.2 Responsflate av samspillseffekten temperatur og viftehastighet

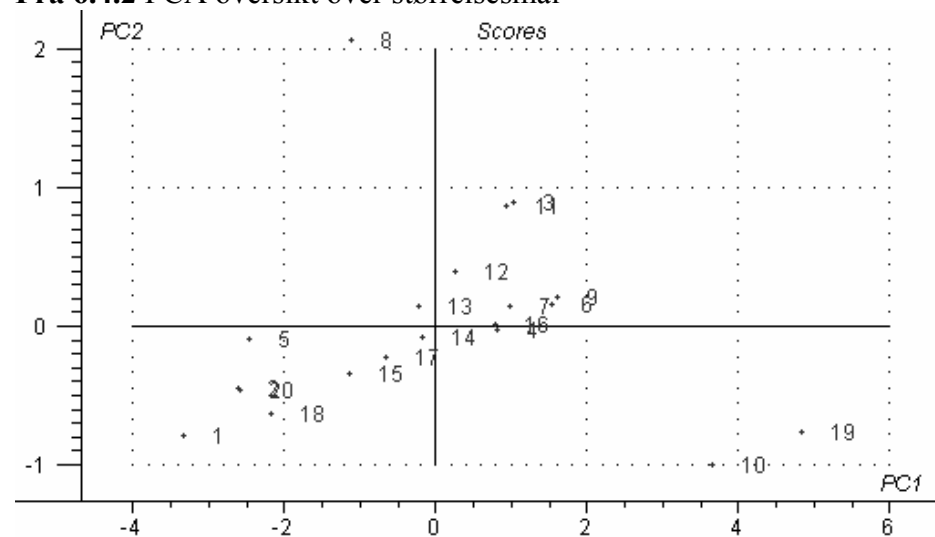
2.136 2.604 3.071 3.539 4.006 4.474

Response Surface

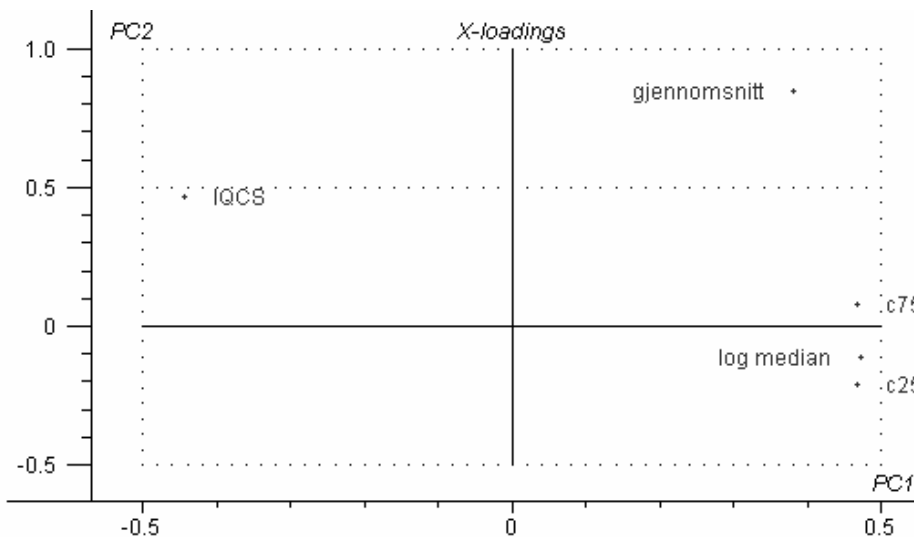


Utbytte prosess..., PC: 2, Y-var: Utbytte, (X-var = value): konsentrasjon = 2.0000, amidert = -1.000

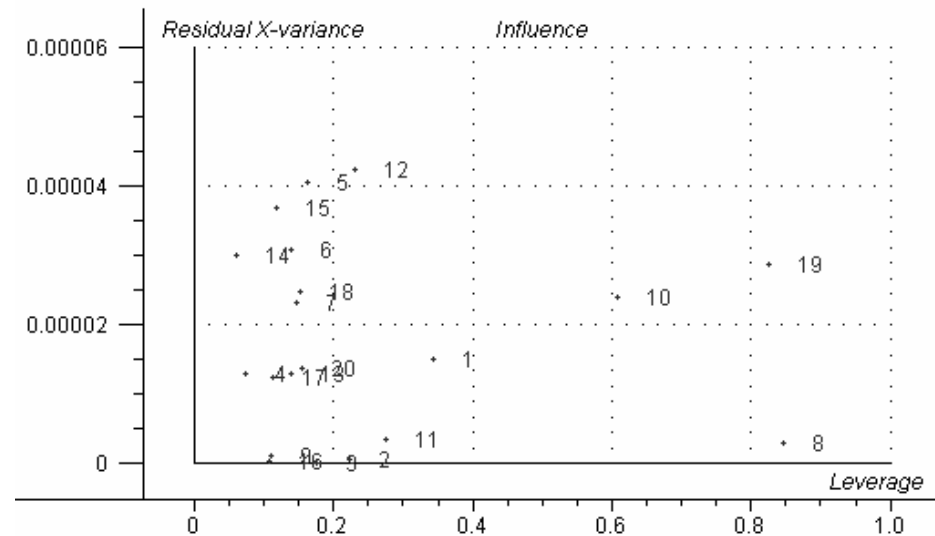
Fra 6.4.2 PCA oversikt over størrelsesmål



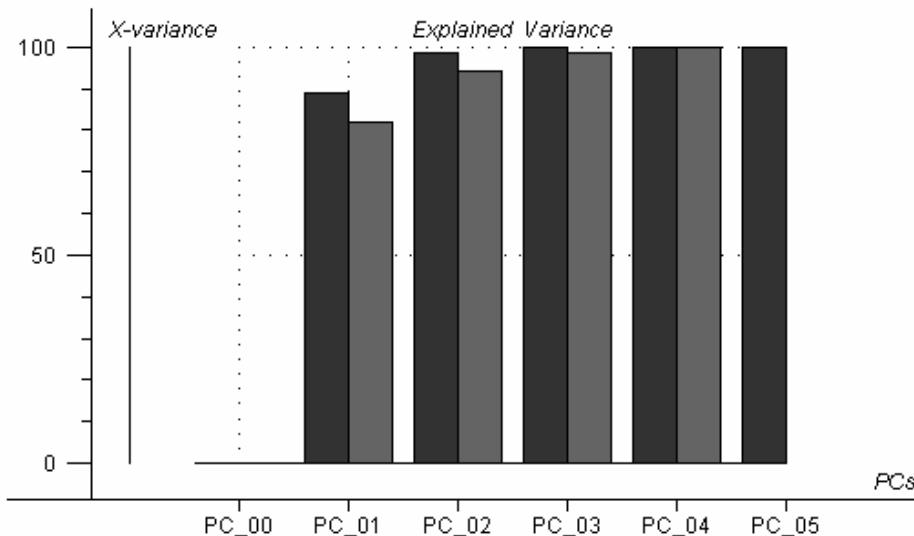
PCA på størrels..., X-expl: 89%,10%



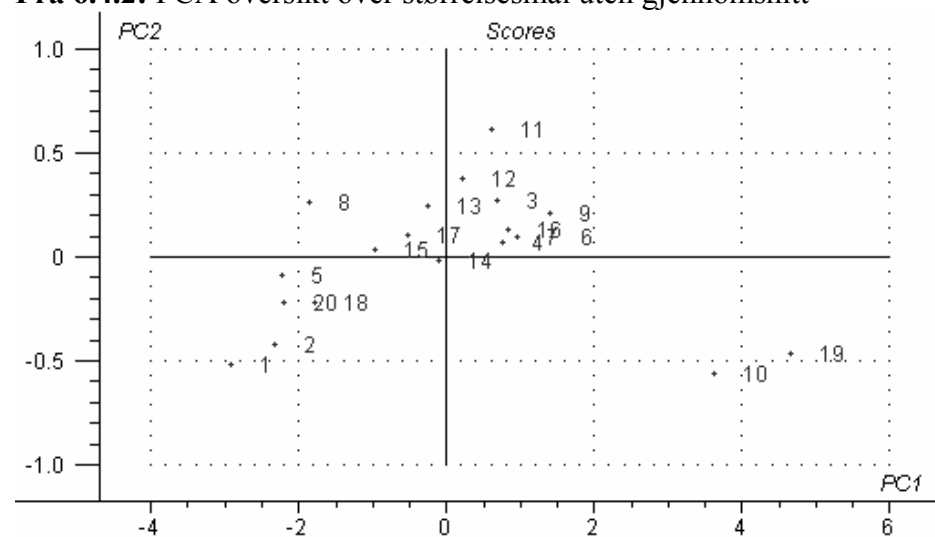
PCA på størrels..., X-expl: 89%,10%



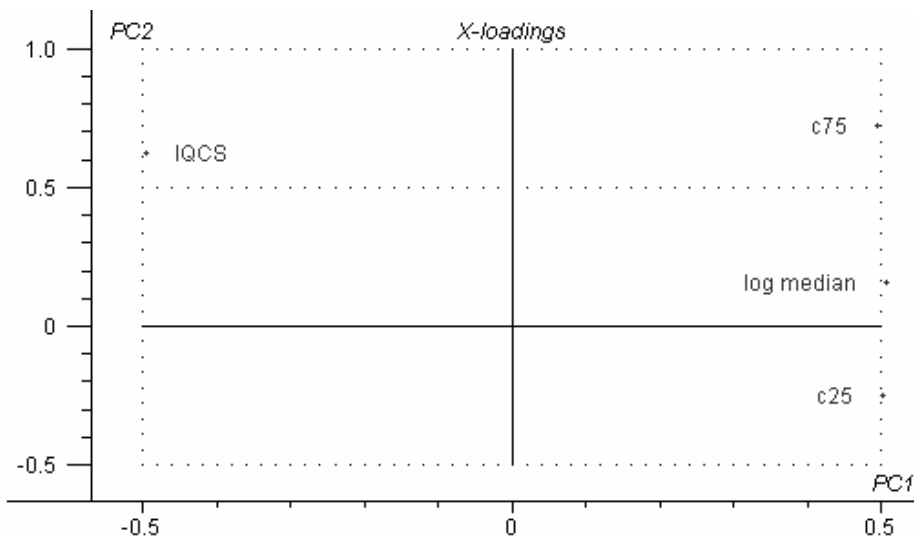
PCA på størrels..., PC: 4,4



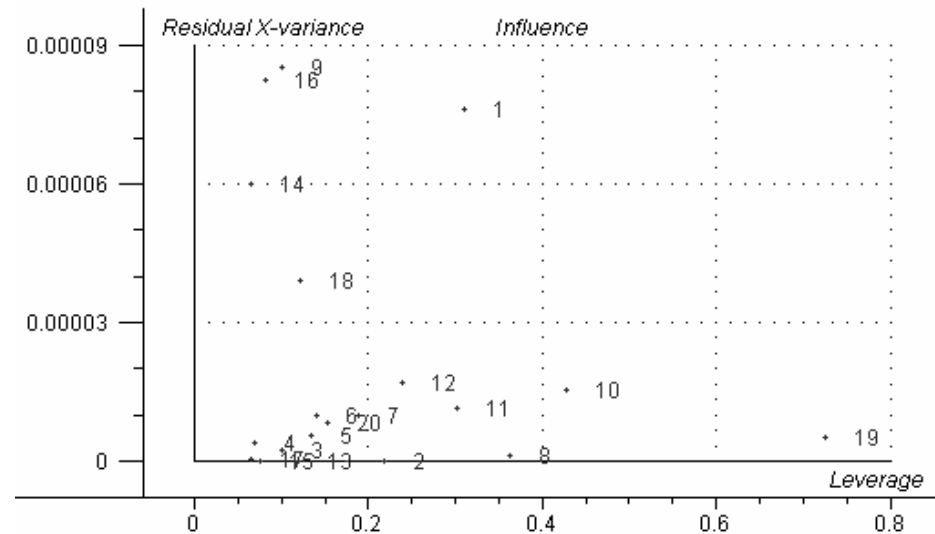
PCA på størrels..., Variable: c.Total v.Total

Fra 6.4.2: PCA oversikt over størrelsesmål uten gjennomsnitt

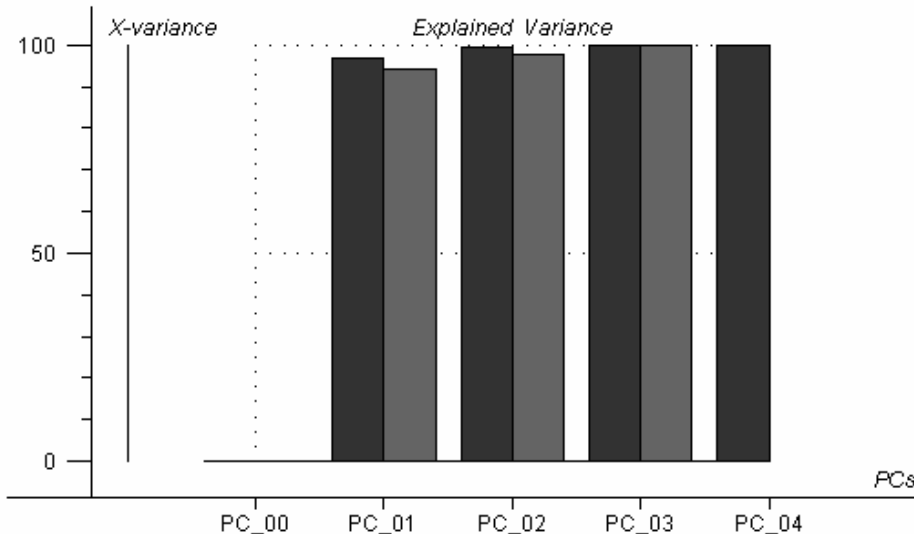
uten gjennomsni..., X-expl: 97%,2%



uten gjennomsni..., X-expl: 97%,2%

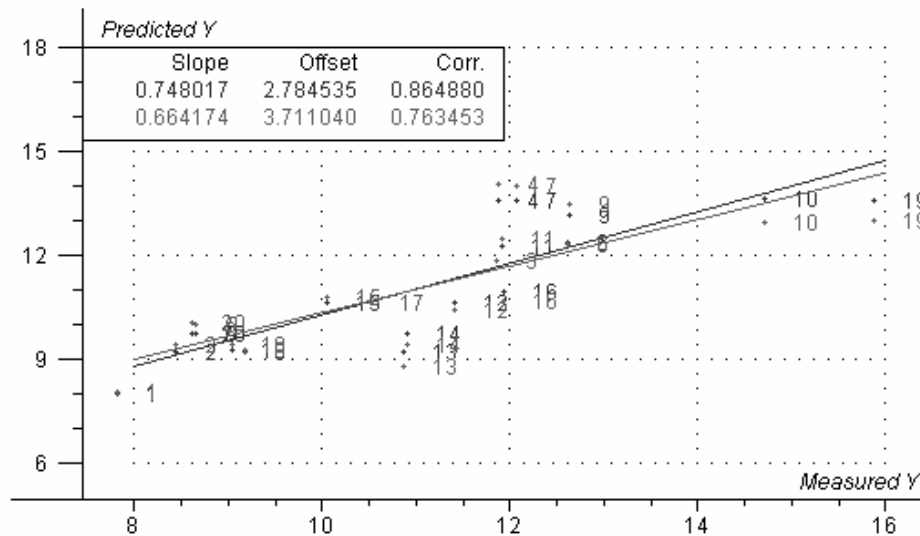
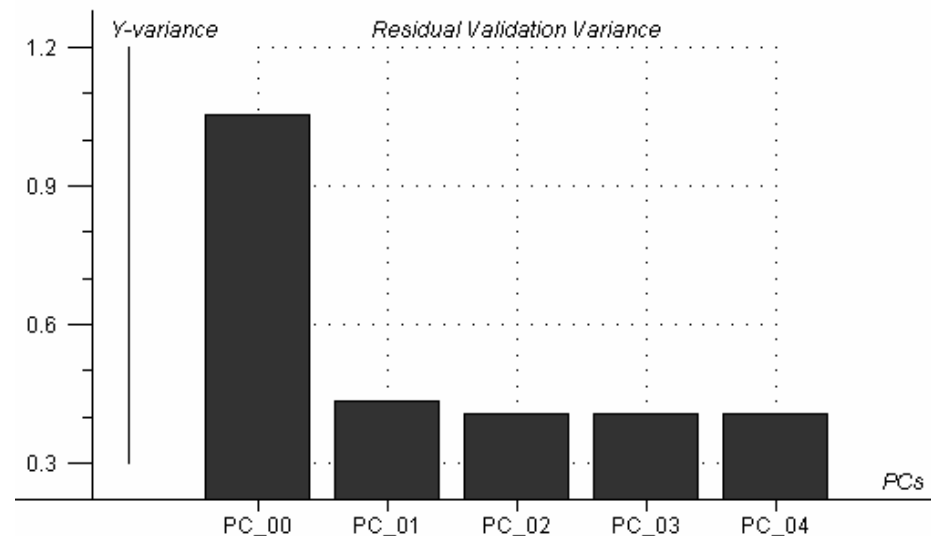
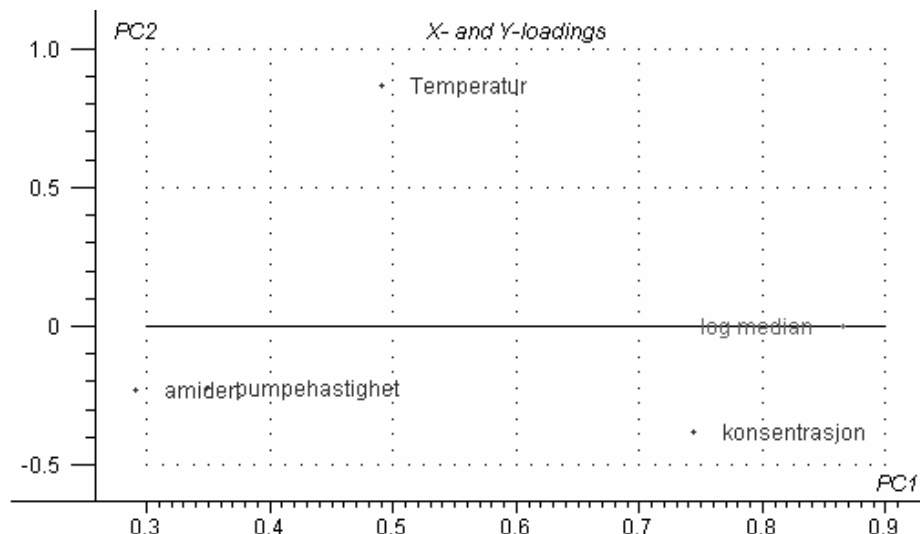
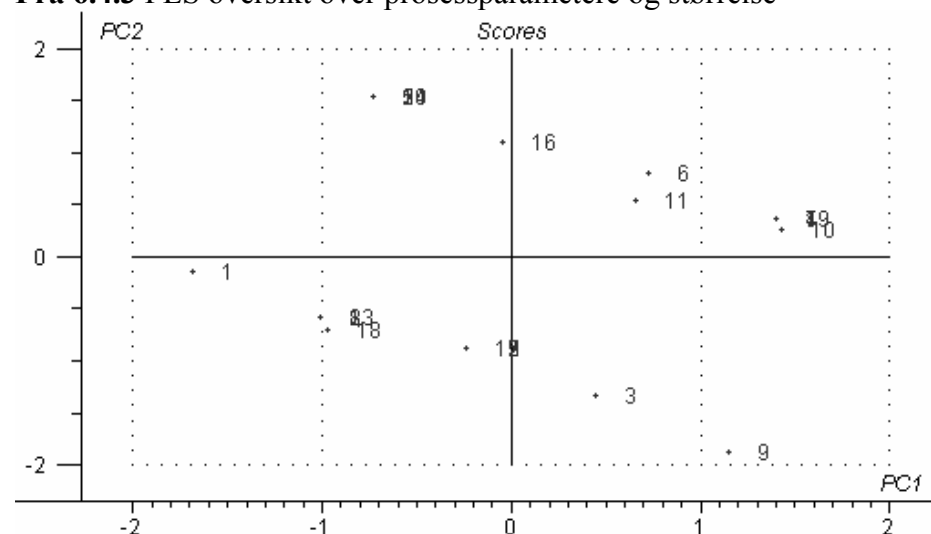


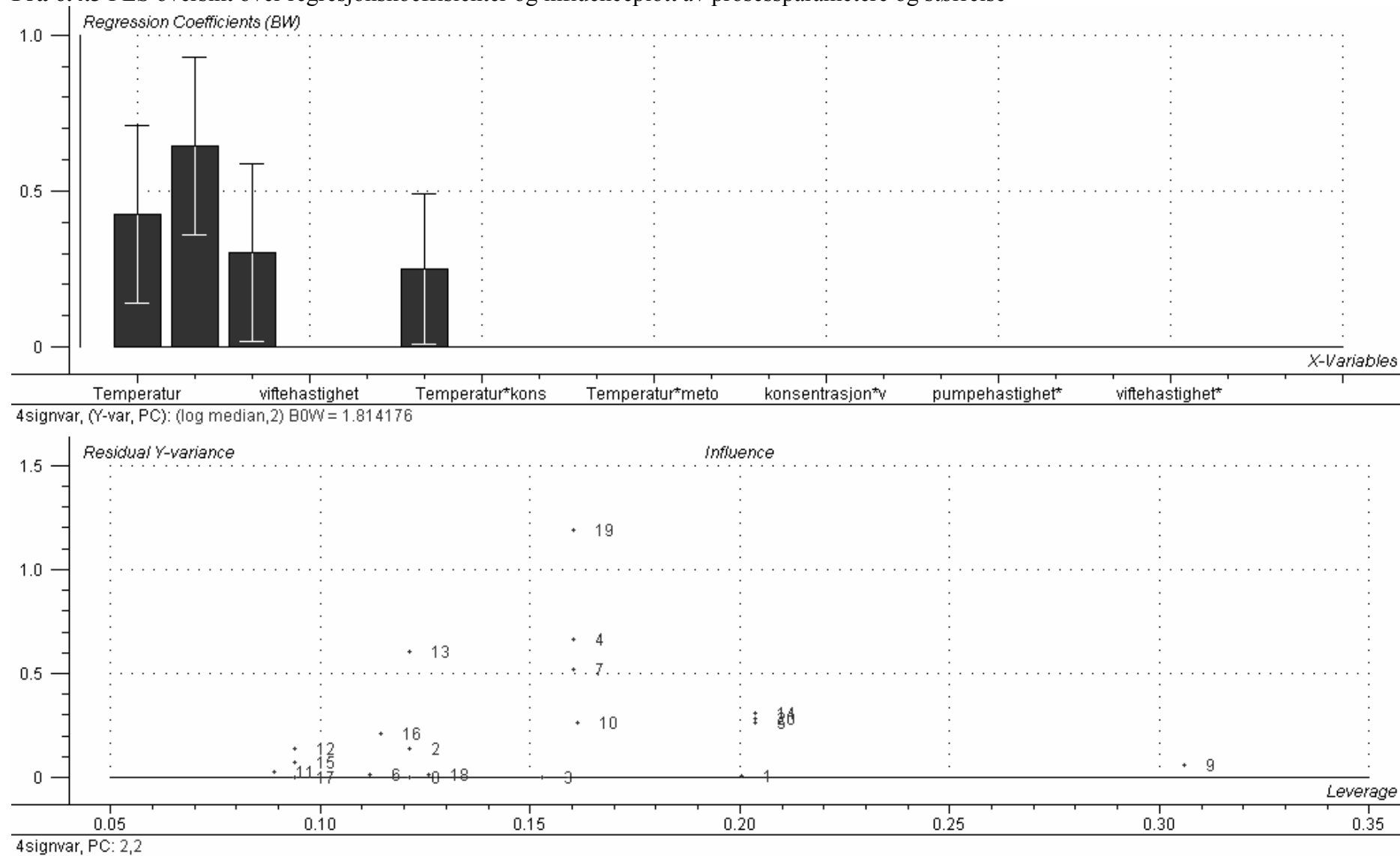
uten gjennomsni..., PC: 3,3



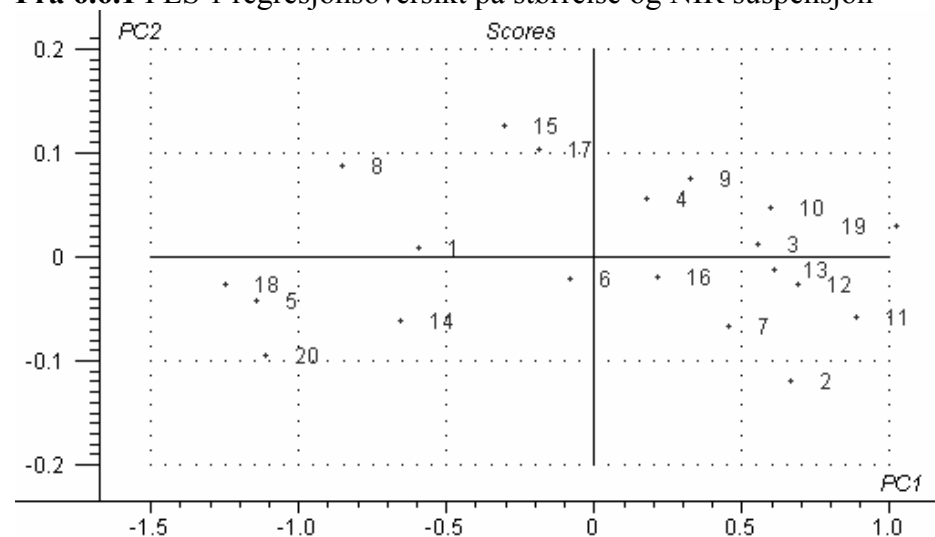
uten gjennomsni..., Variable: c.Total v.Total

Fra 6.4.3 PLS oversikt over prosessparametere og størrelse

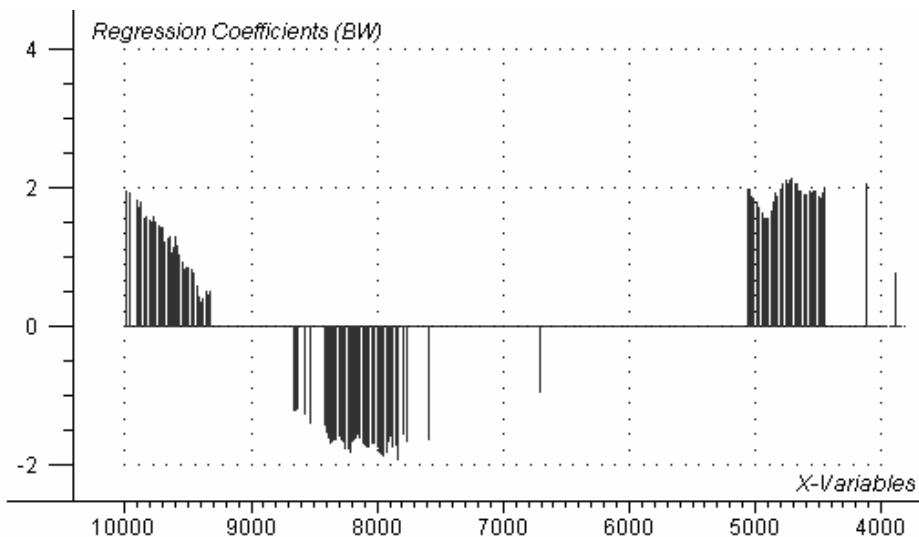


Fra 6.4.3 PLS oversikt over regresjonskoeffisienter og influenceplott av prosessparametere og størrelse


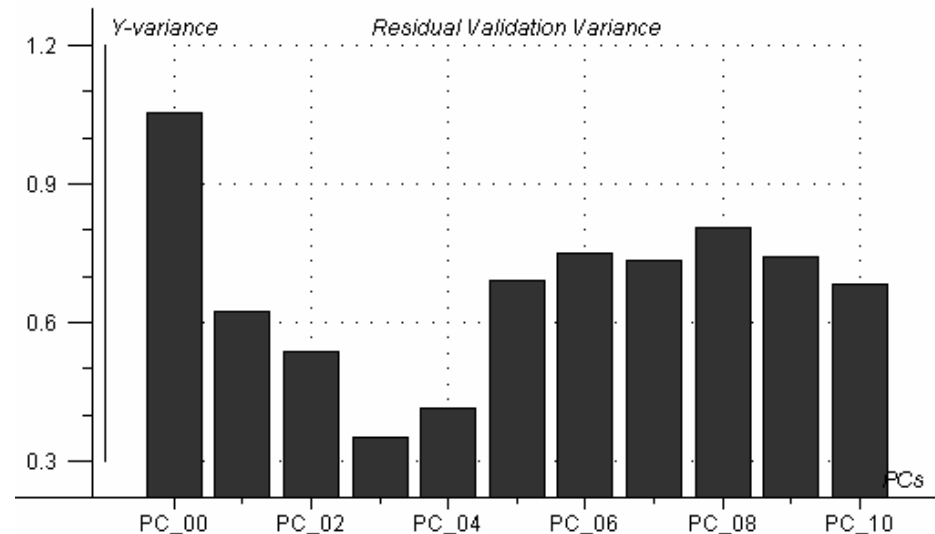
Fra 6.6.1 PLS 1 regresjonsoversikt på størrelse og NIR suspensjon



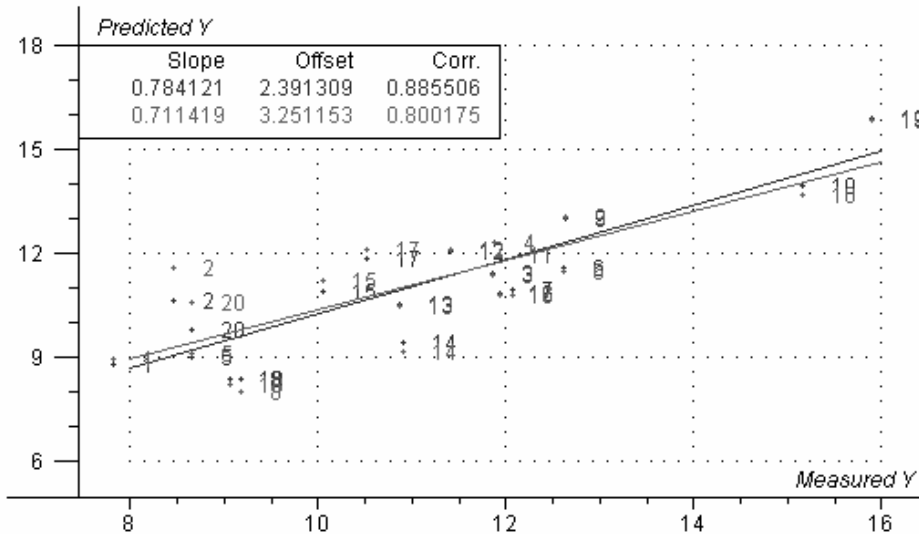
PLSsuspensjonst..., X-expl: 99%,1% Y-expl: 47%,6%



PLSsuspensjonst..., (Y-var, PC): (snitt log median,3) BOW = 6.451161

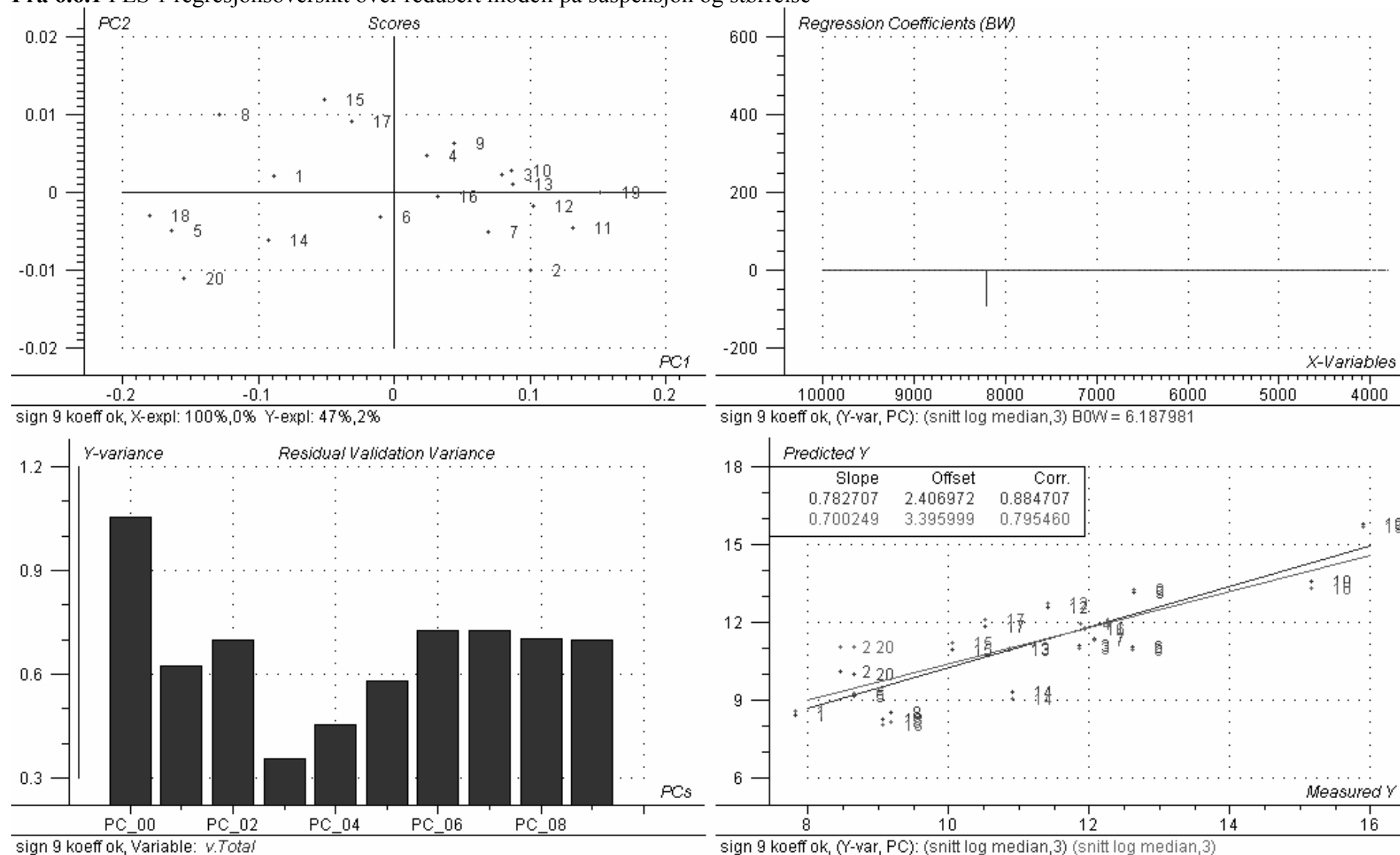


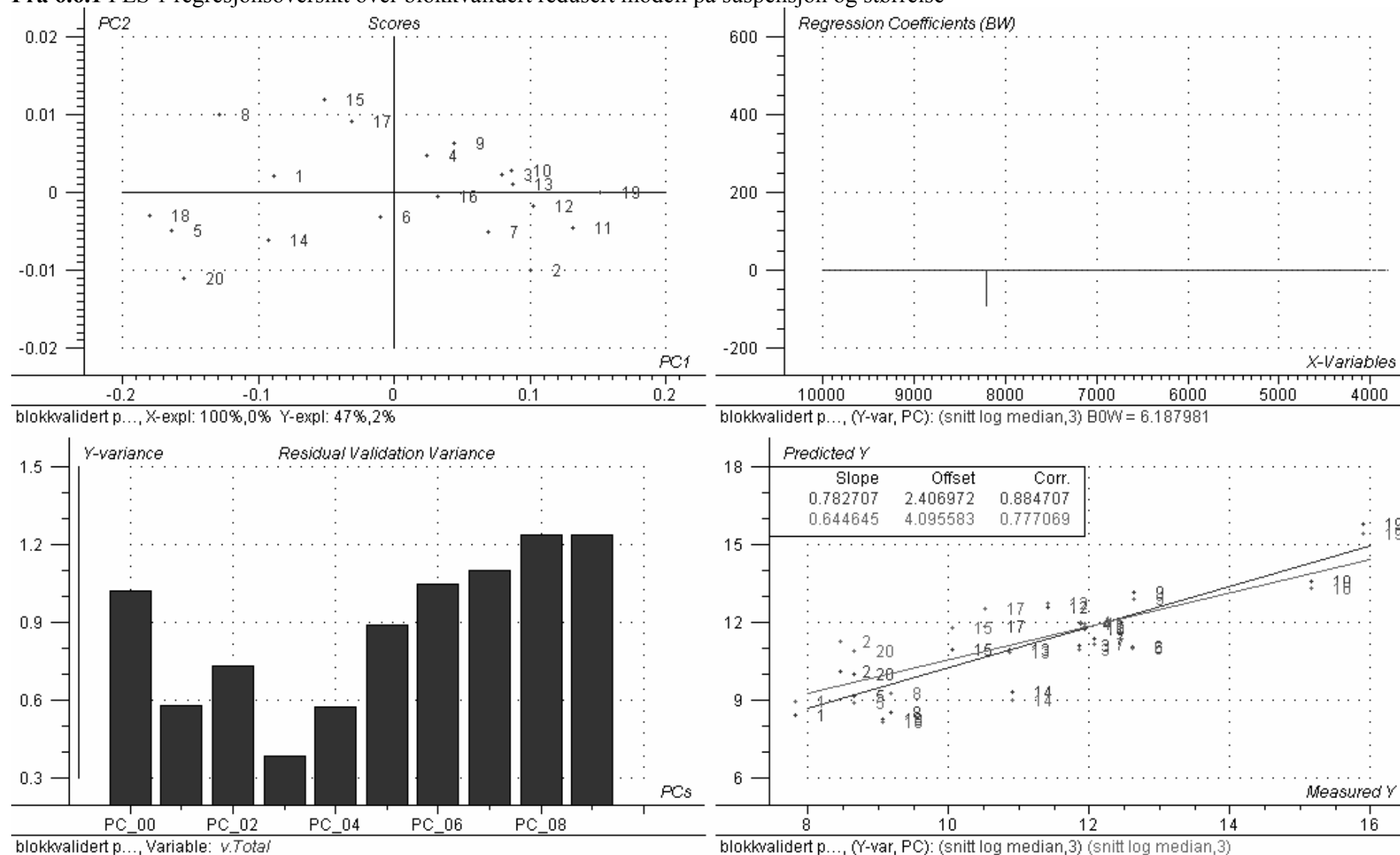
PLSsuspensjonst..., Variable: v.Total

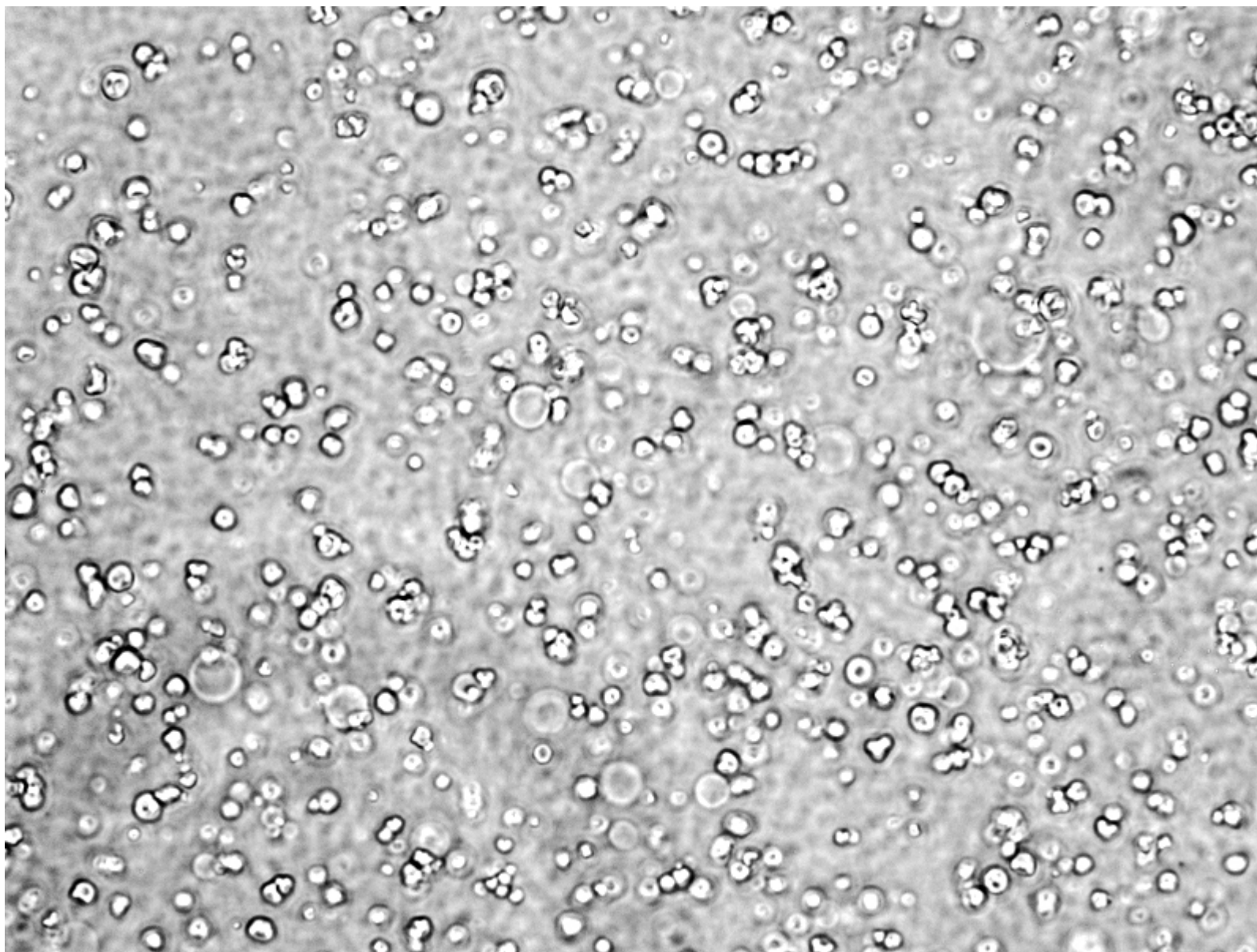


PLSsuspensjonst..., (Y-var, PC): (snitt log median,3) (snitt log median,3)

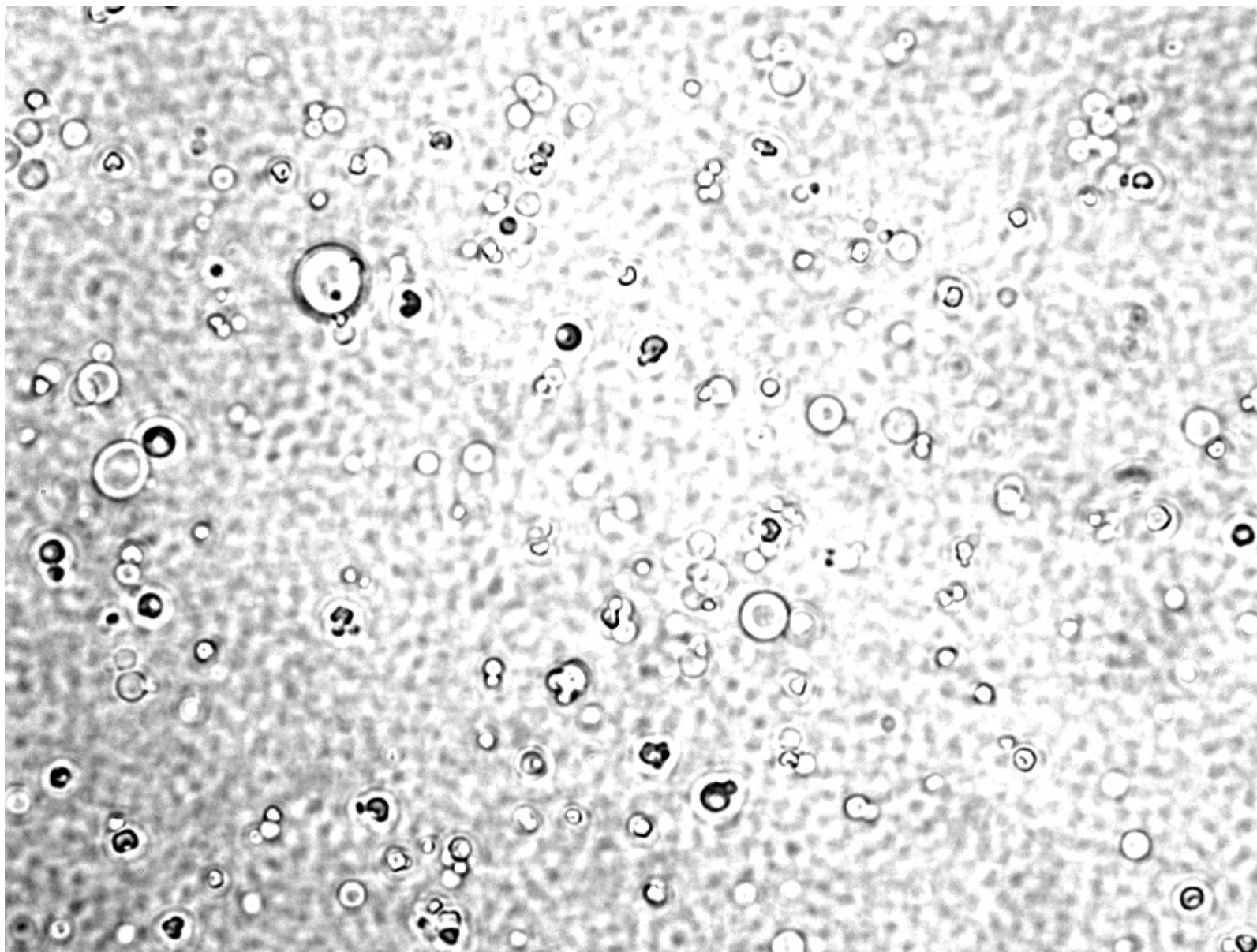
Fra 6.6.1 PLS 1 regresjonsoversikt over redusert modell på suspensjon og størrelse



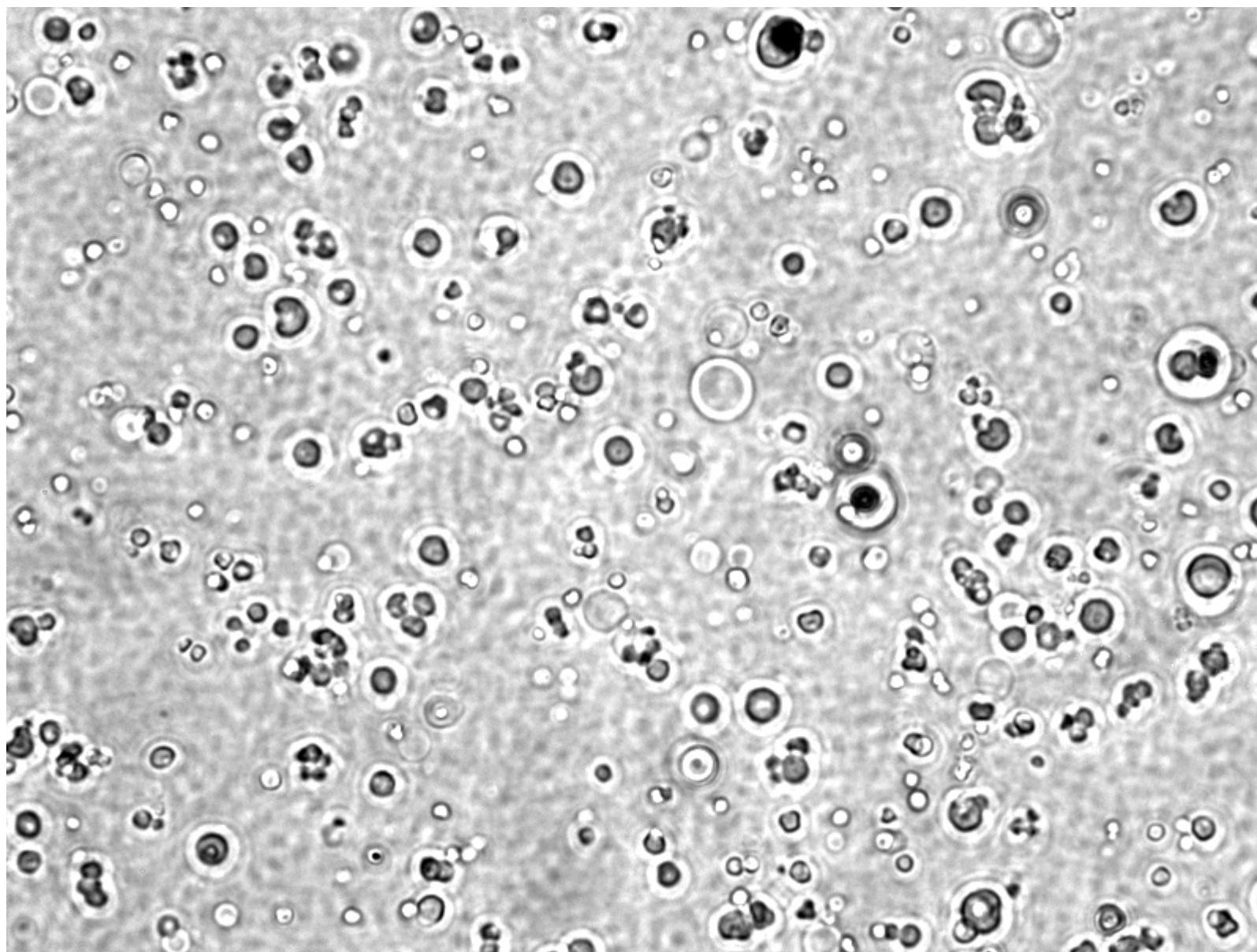
Fra 6.6.1 PLS 1 regresjonsoversikt over blokkvalidert redusert modell på suspensjon og størrelse




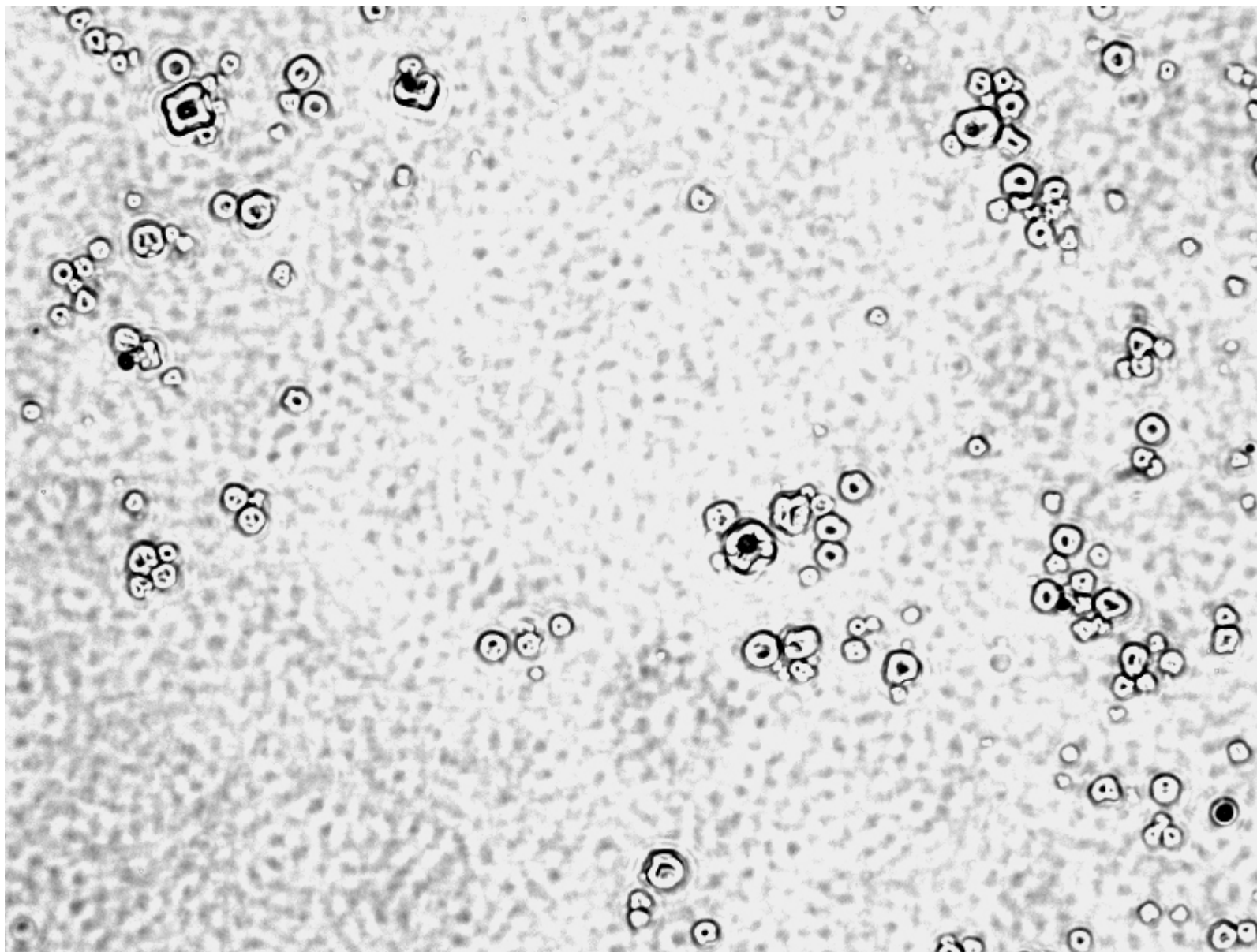
Prøve 1



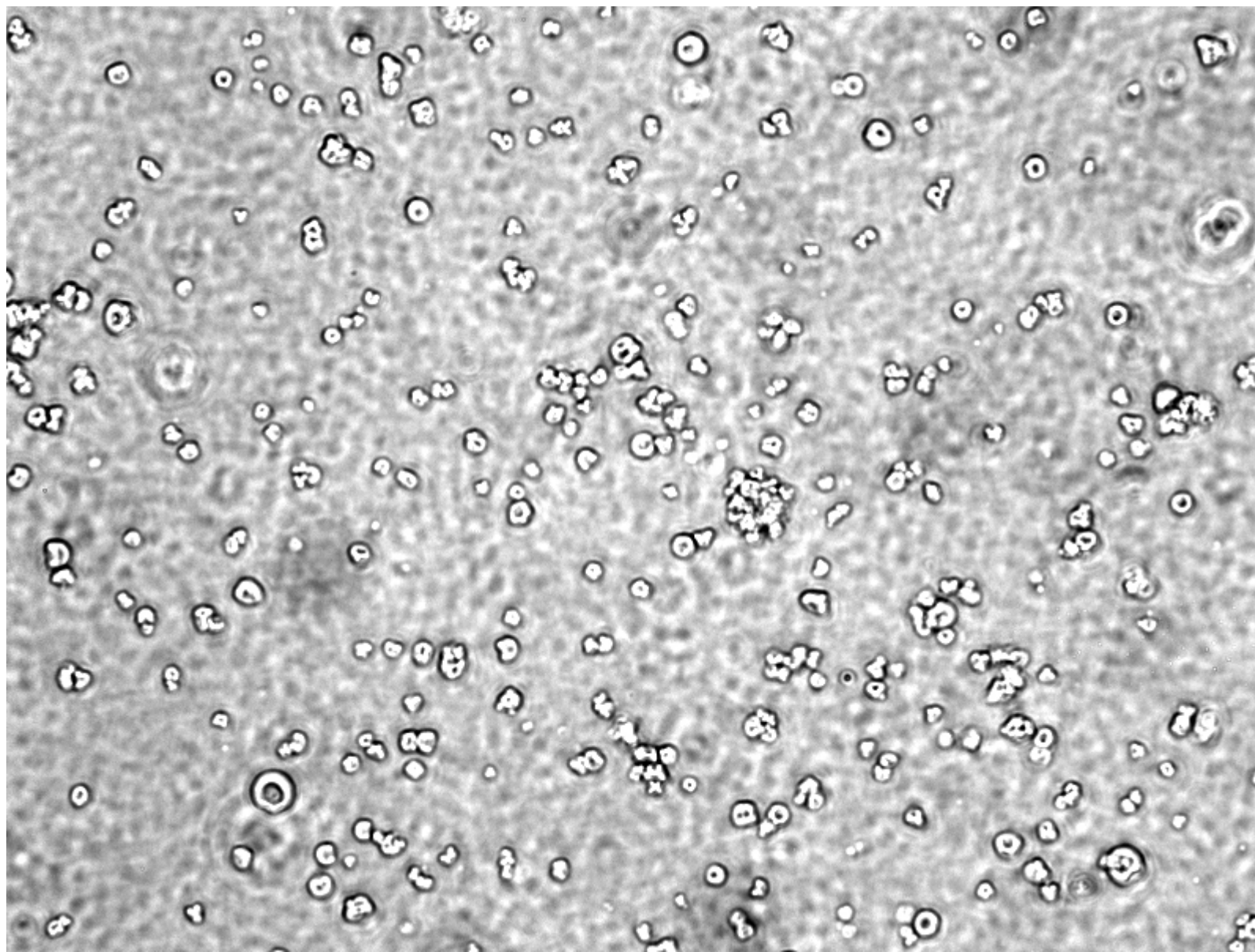
Prøve 2



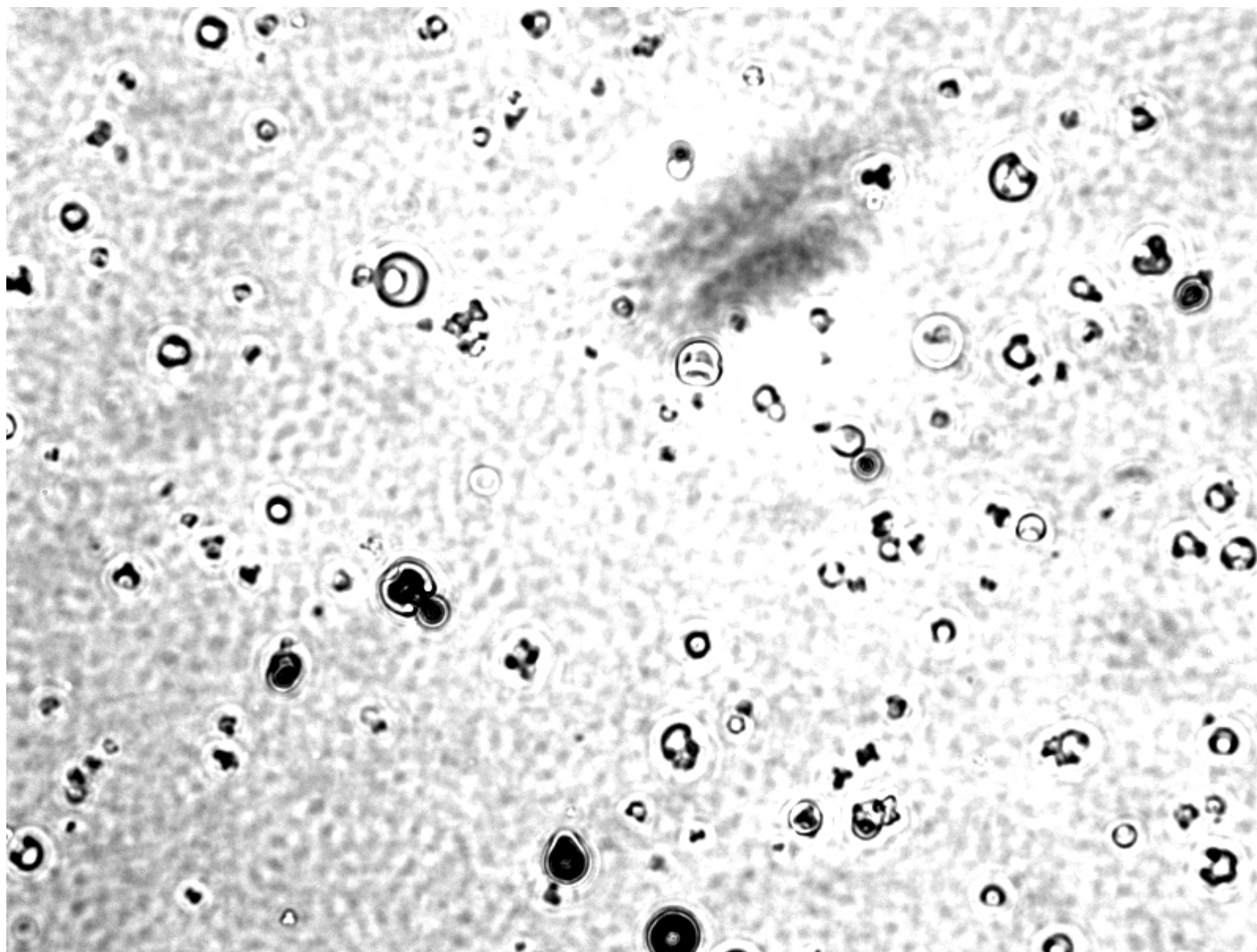
Prøve 3



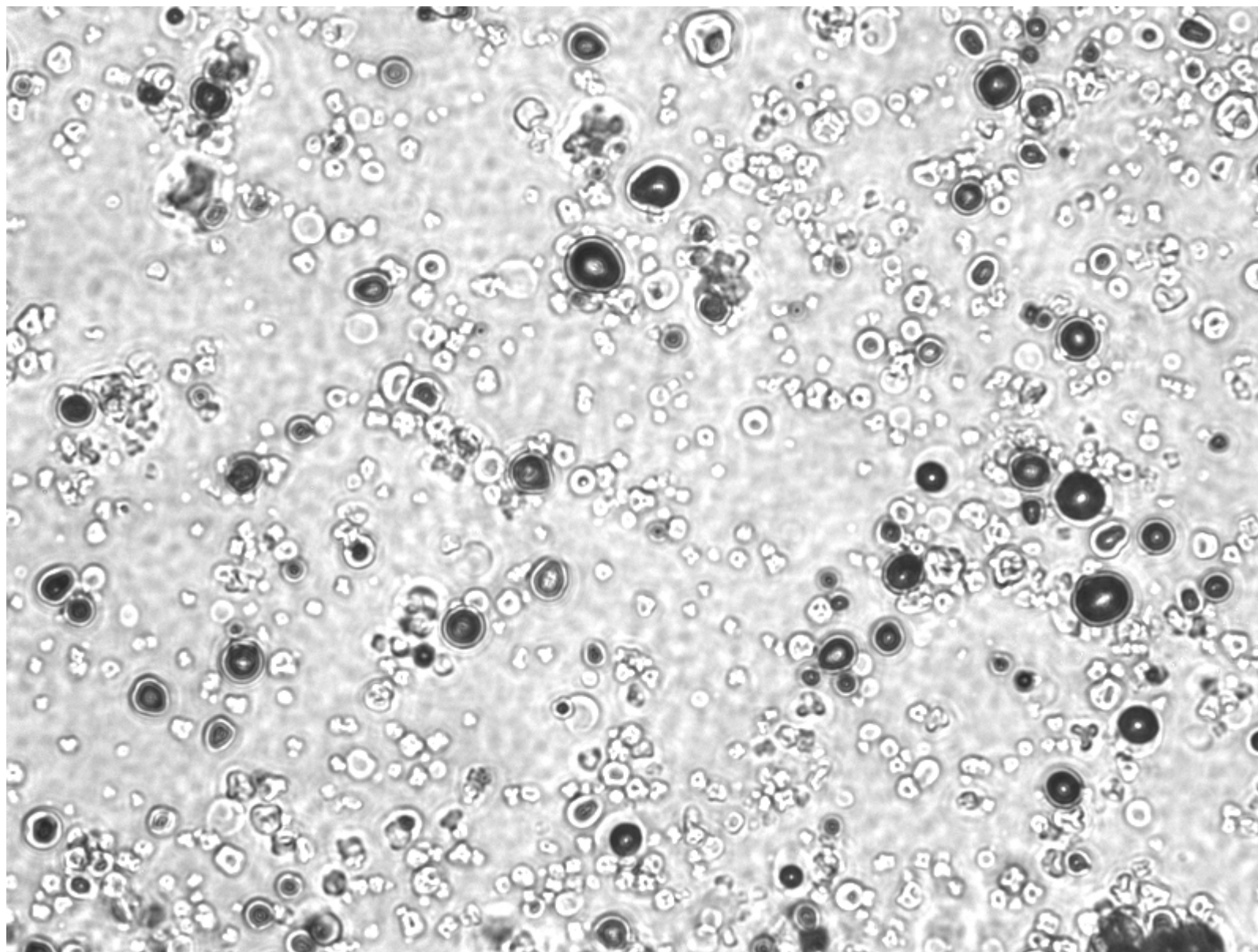
Prøve 4



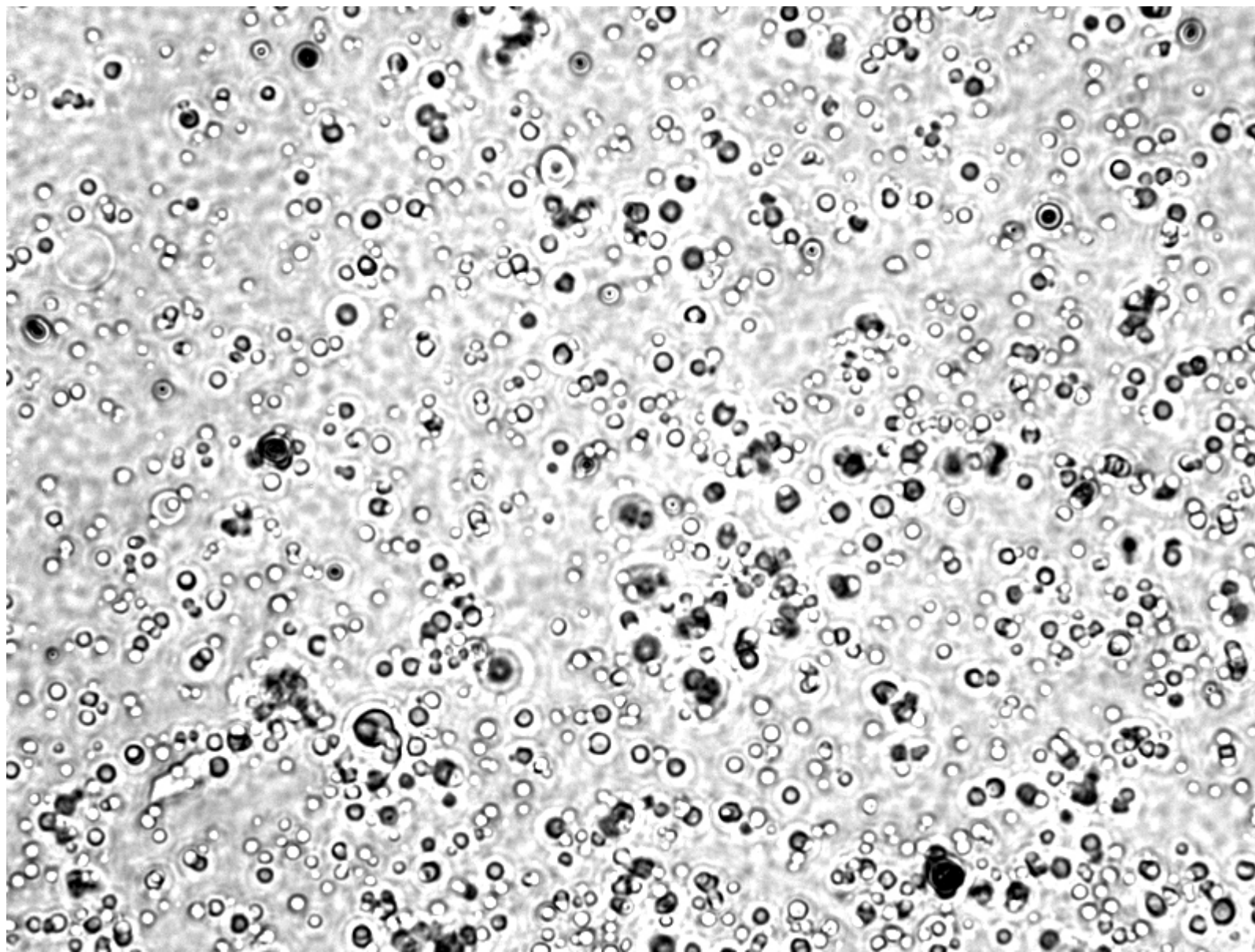
Prøve 5



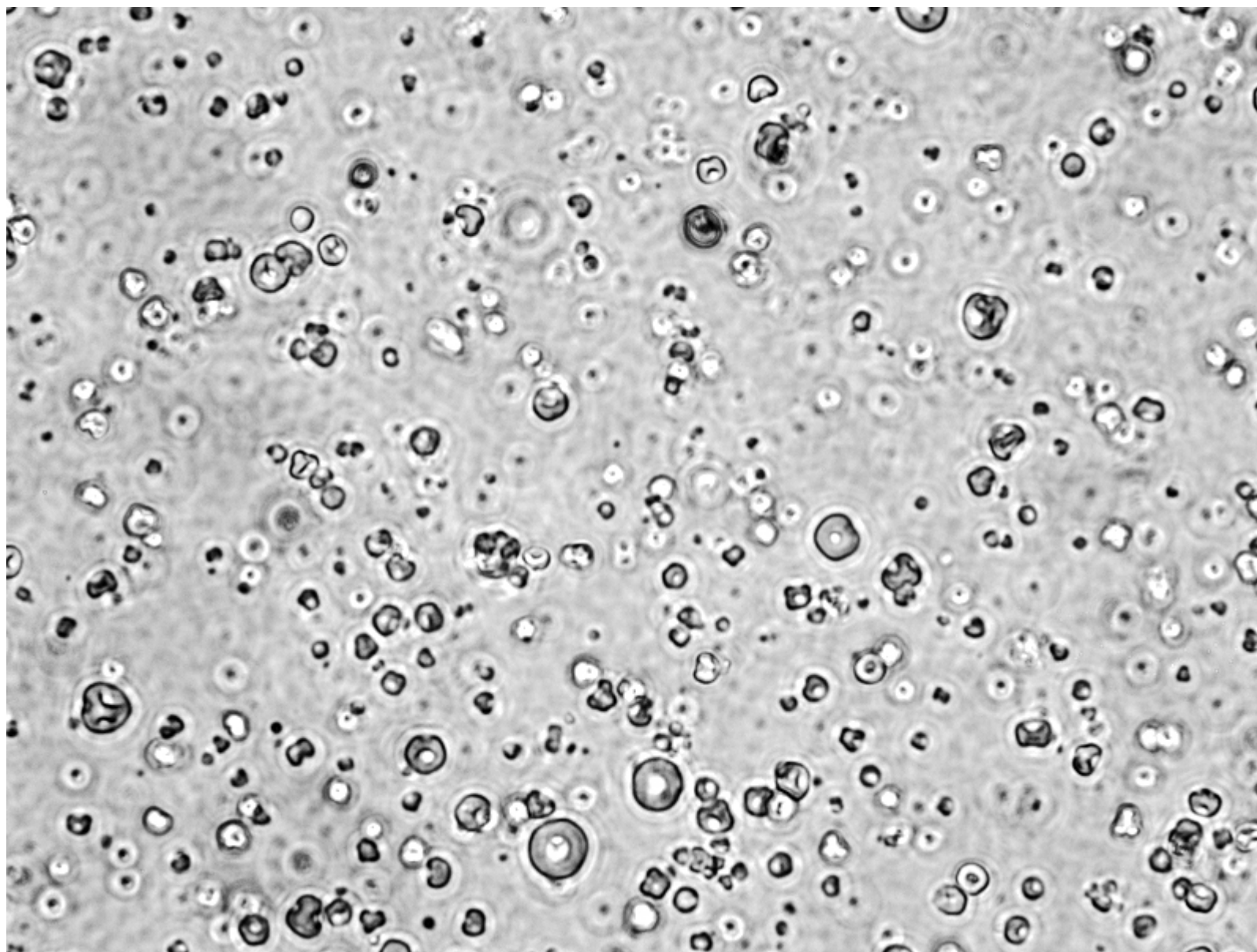
Prøve 6



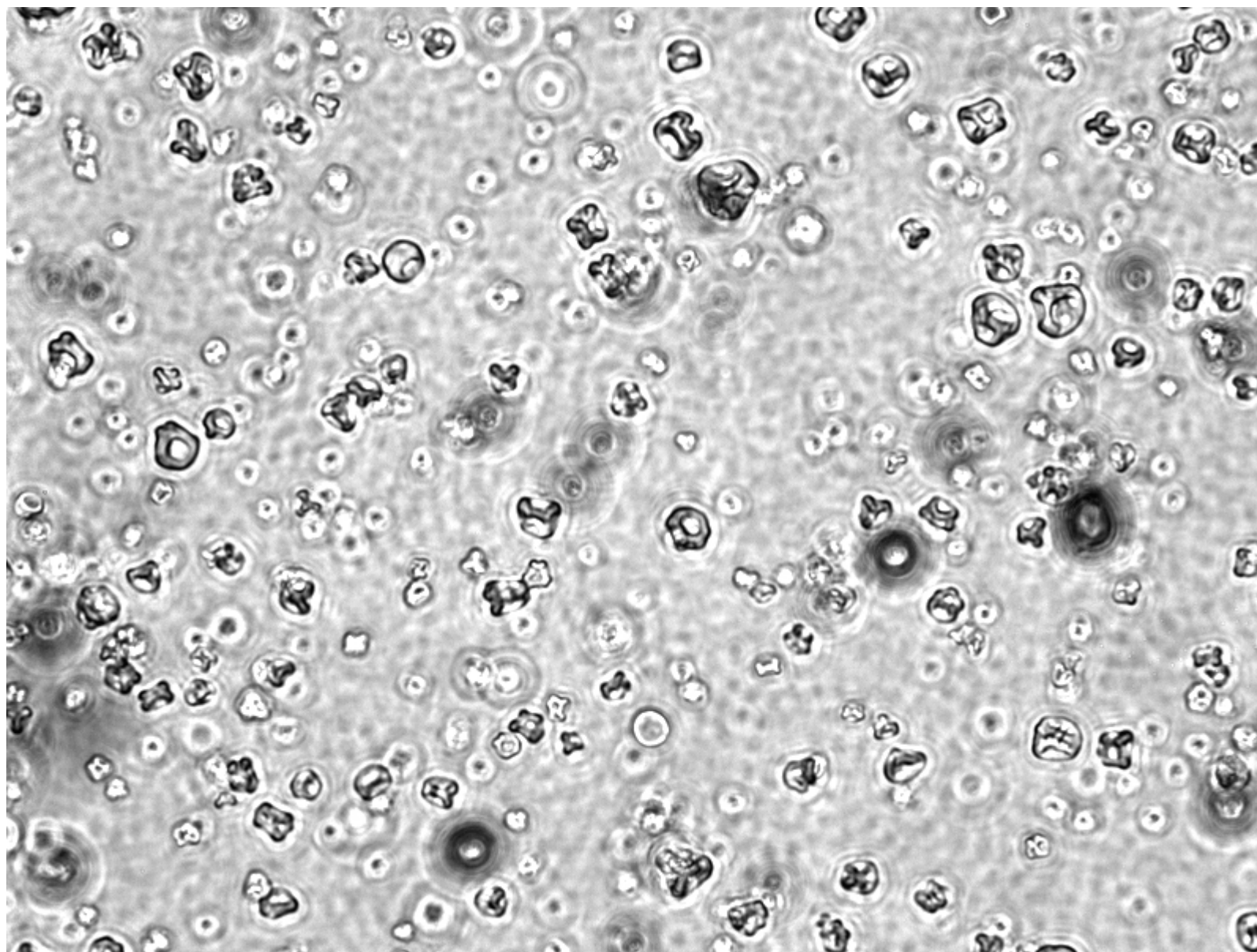
Prøve 7



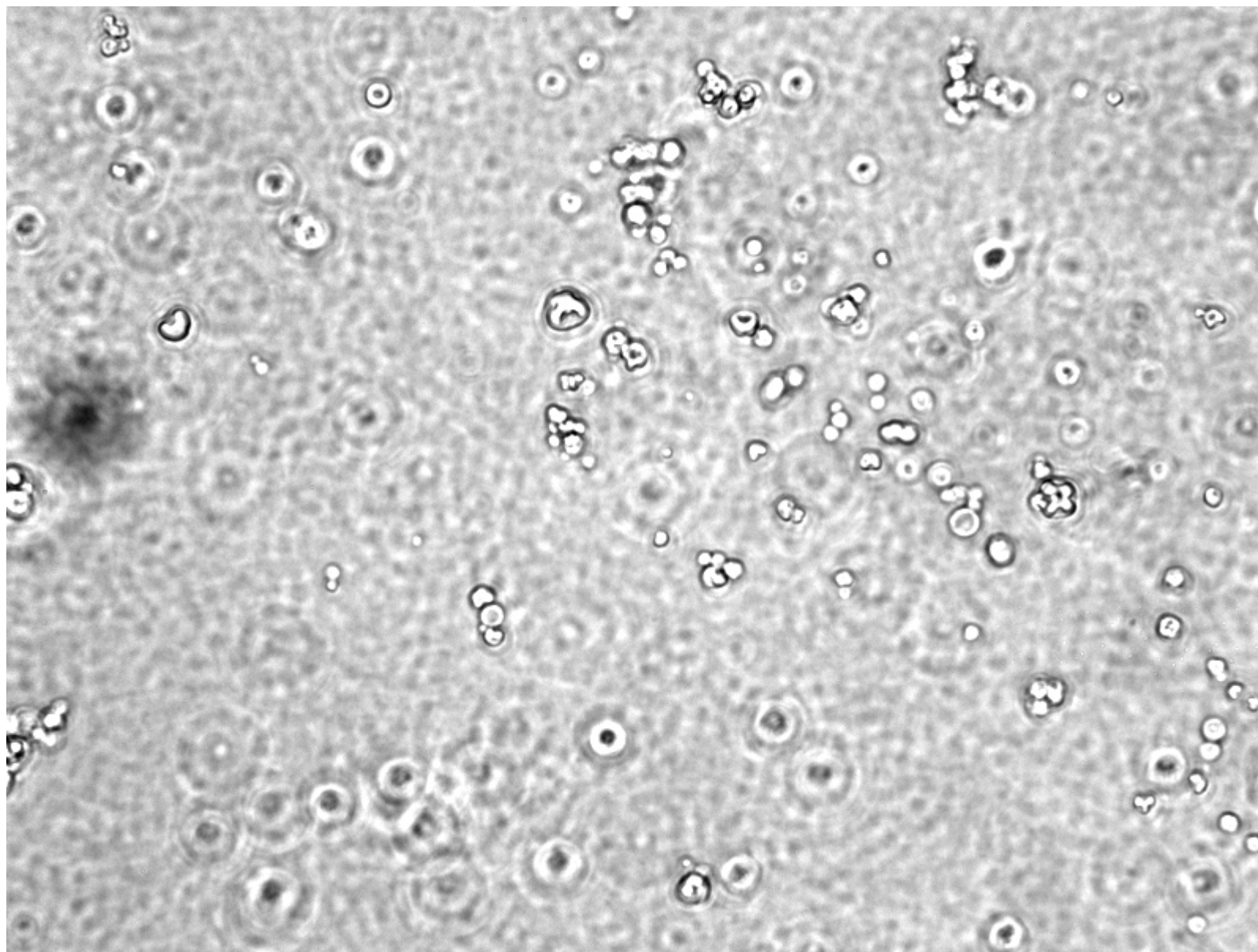
Prøve 8



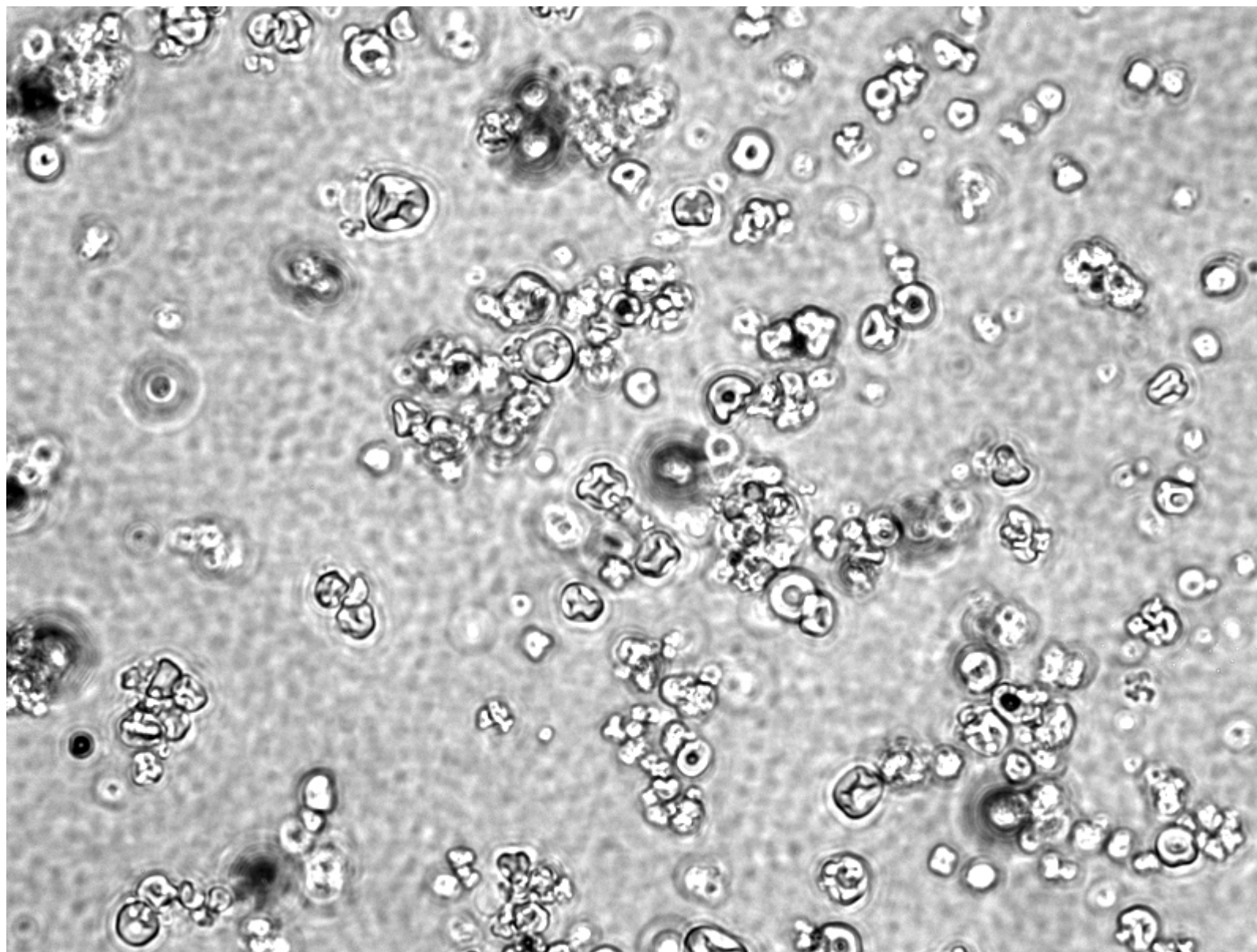
Prøve 9



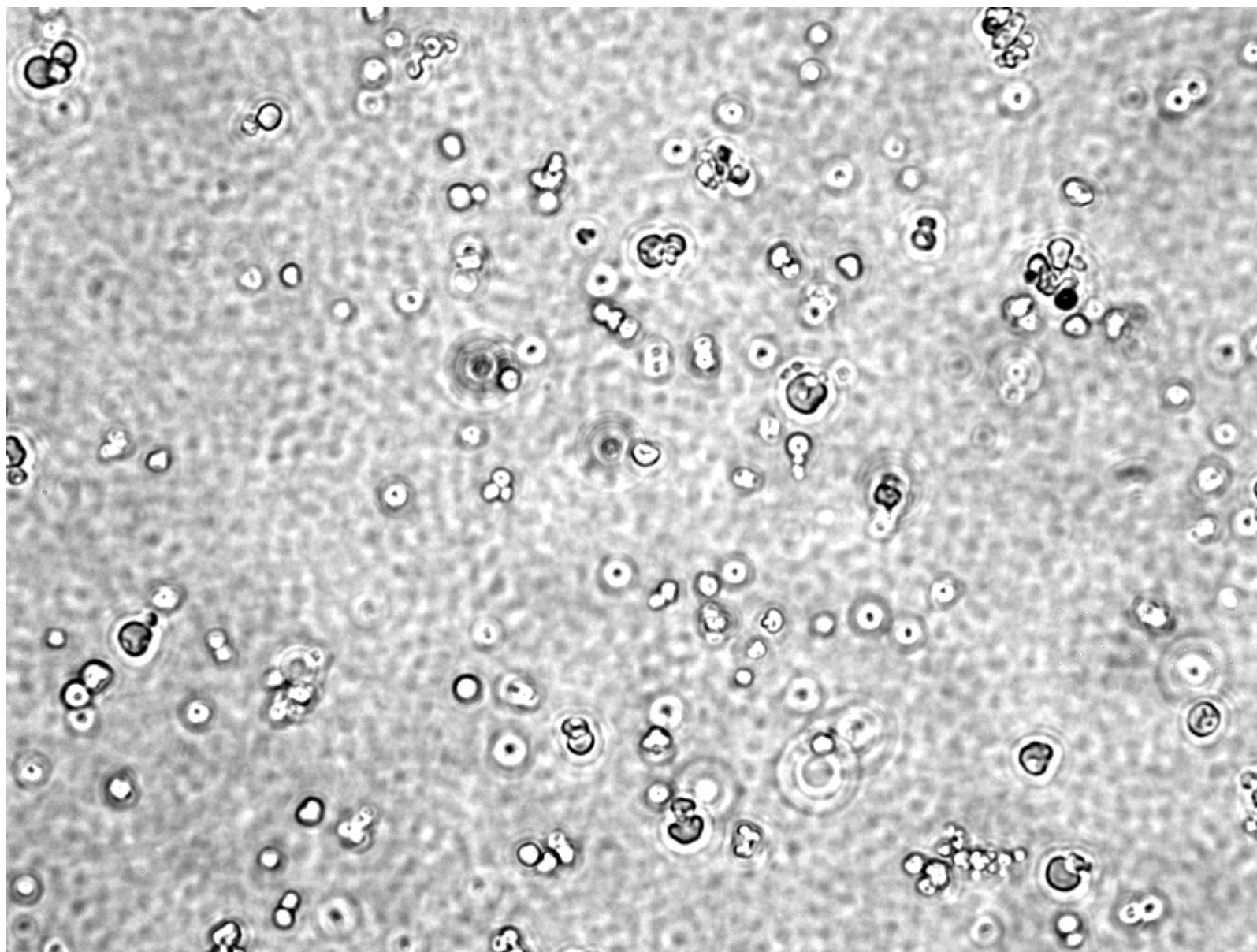
Prøve 10



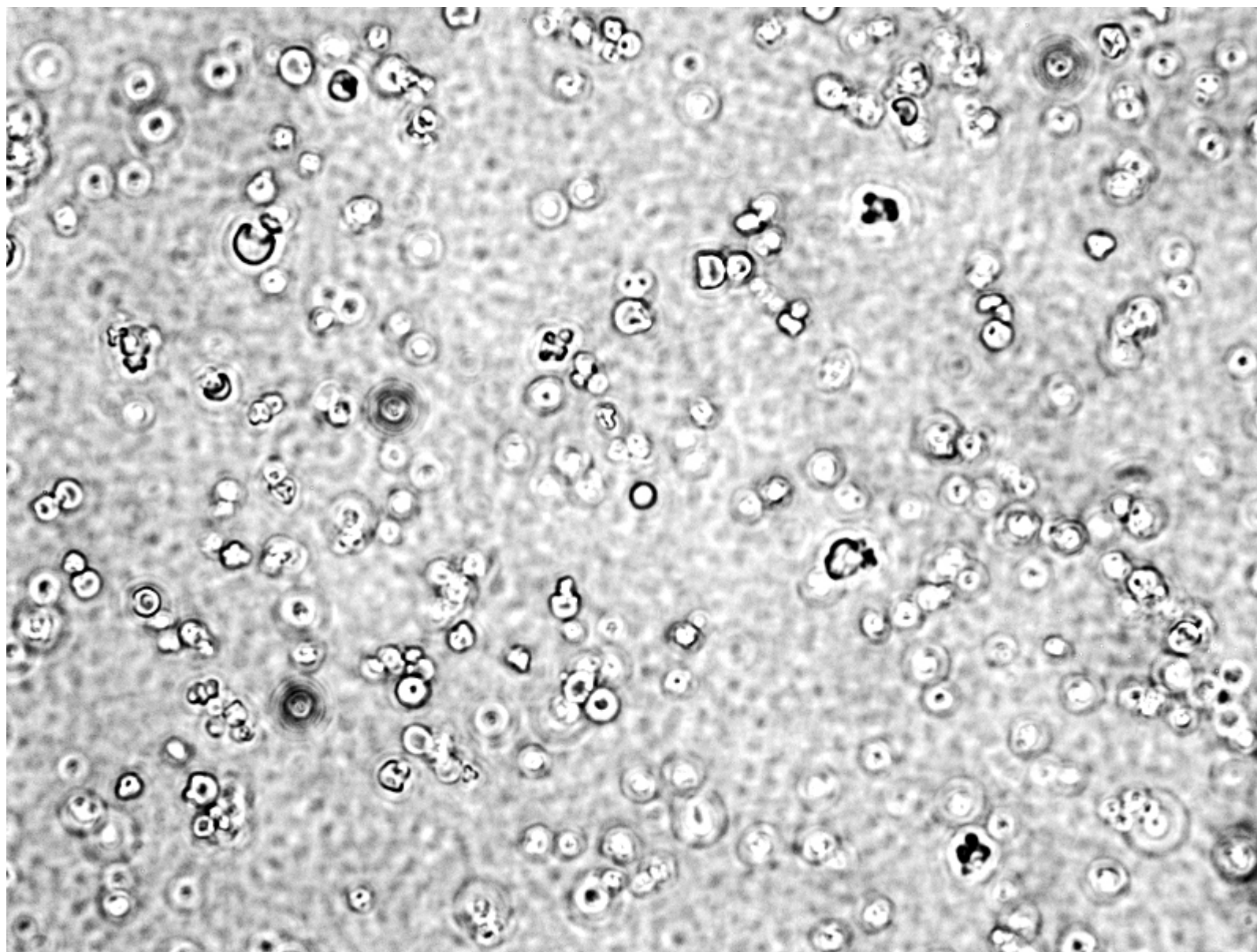
Prøve 11



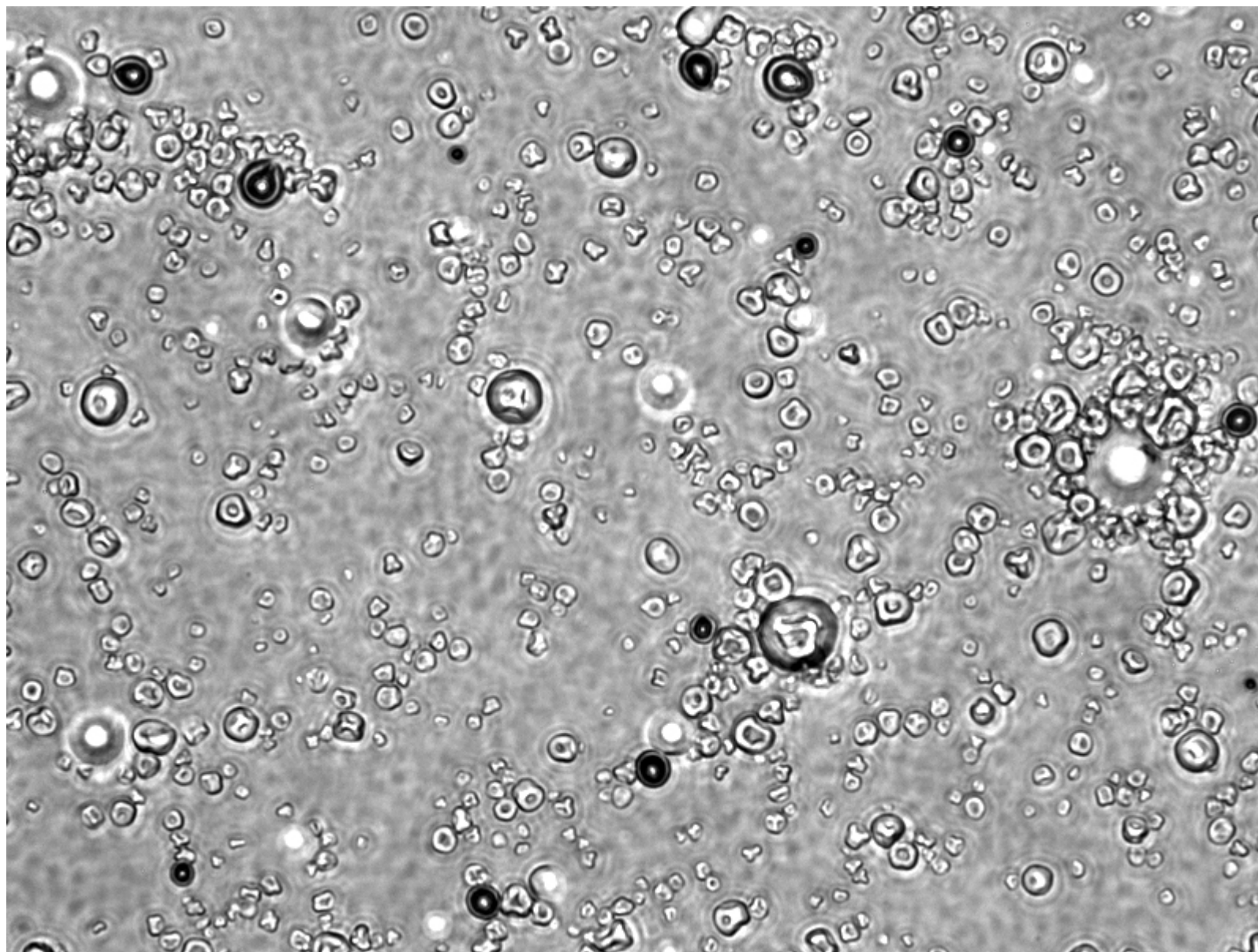
Prøve 12



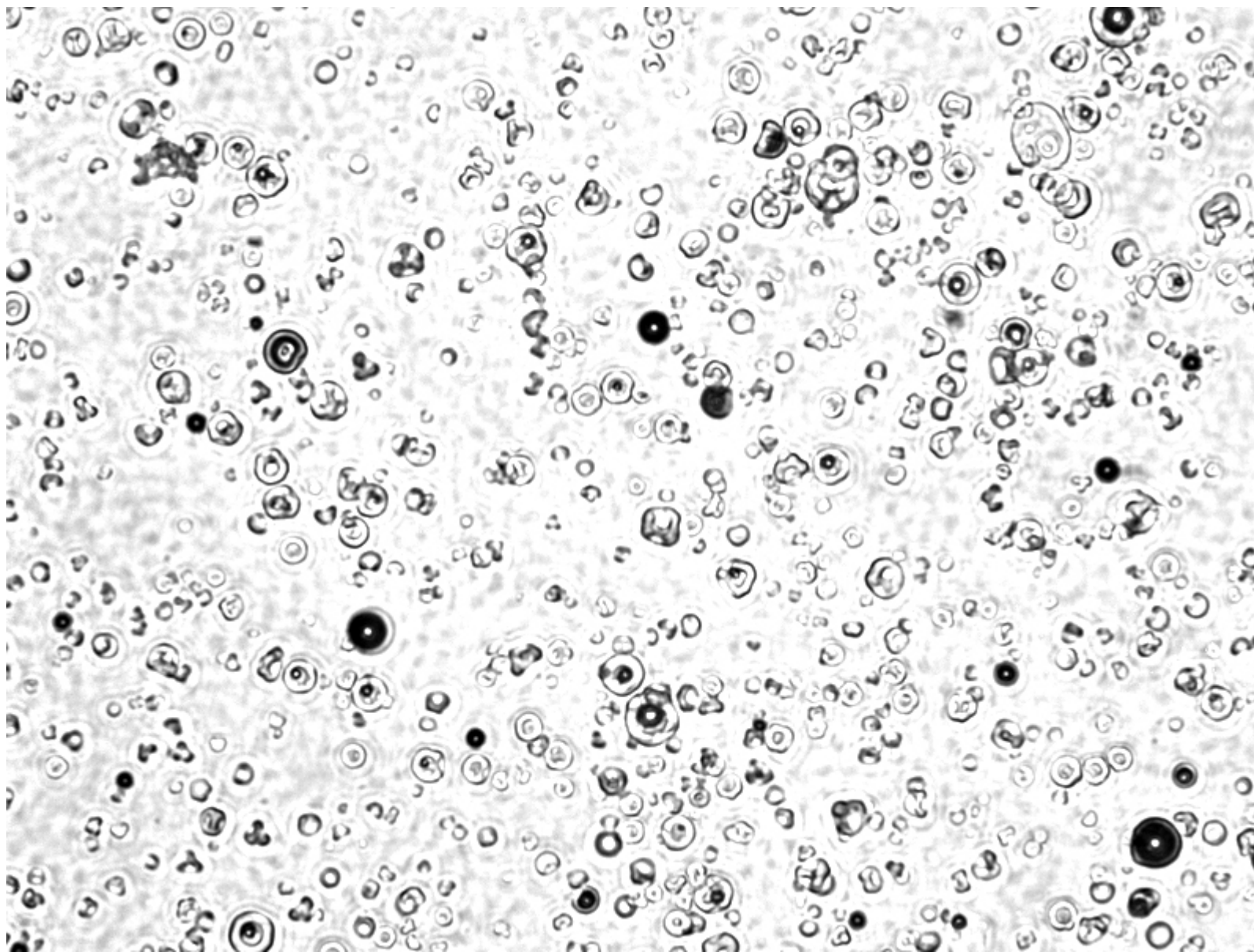
Prøve 13



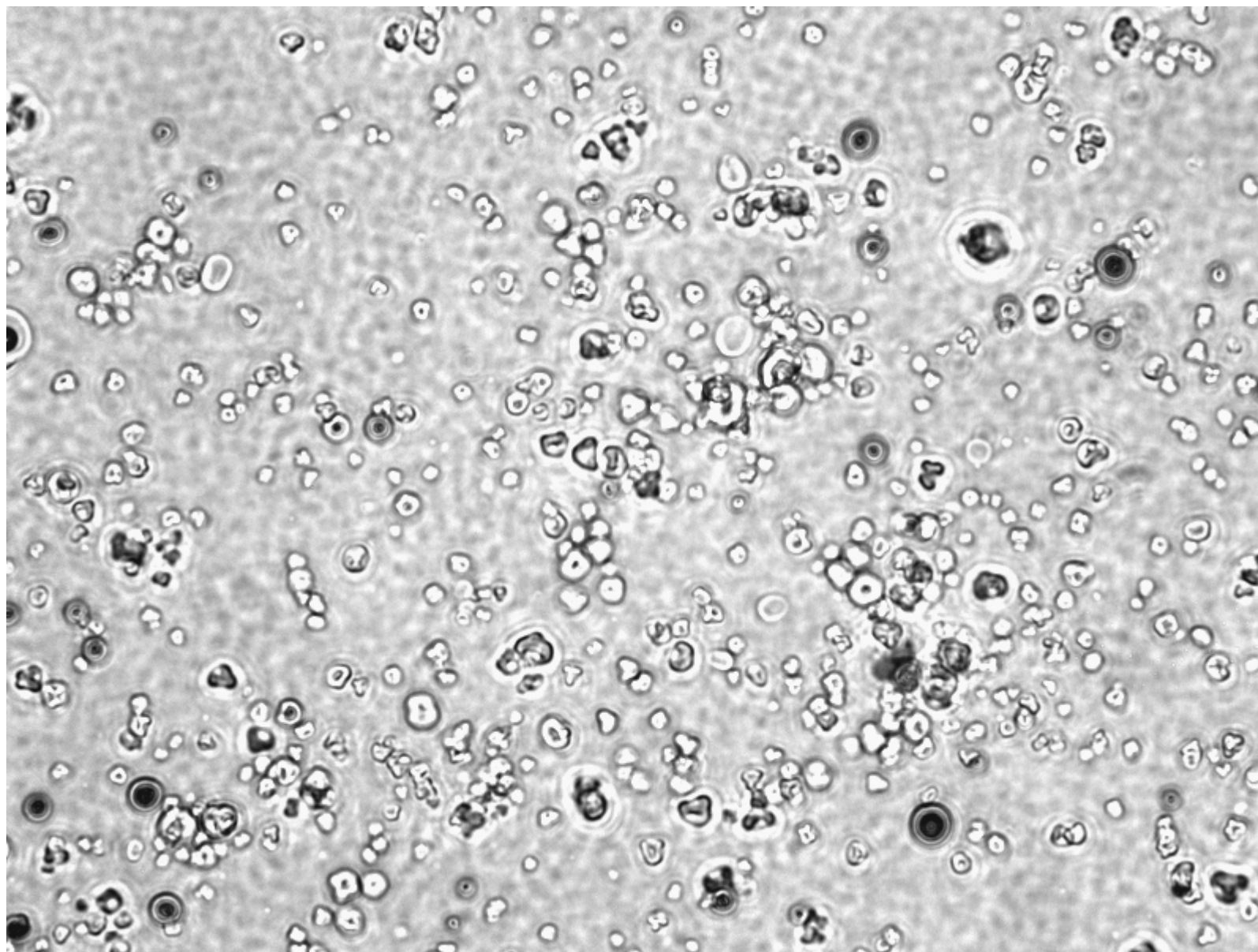
Prøve 14



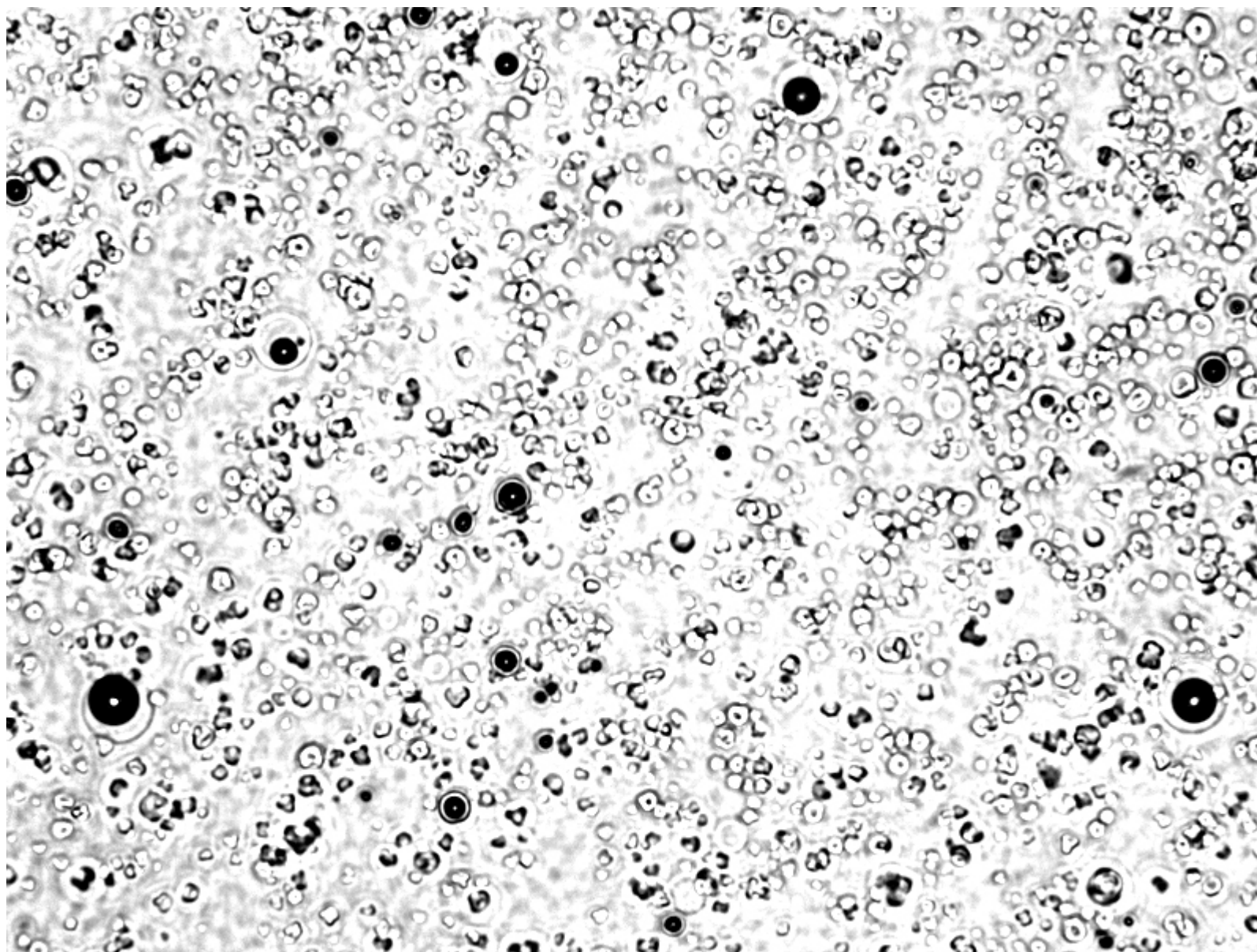
Prøve 15



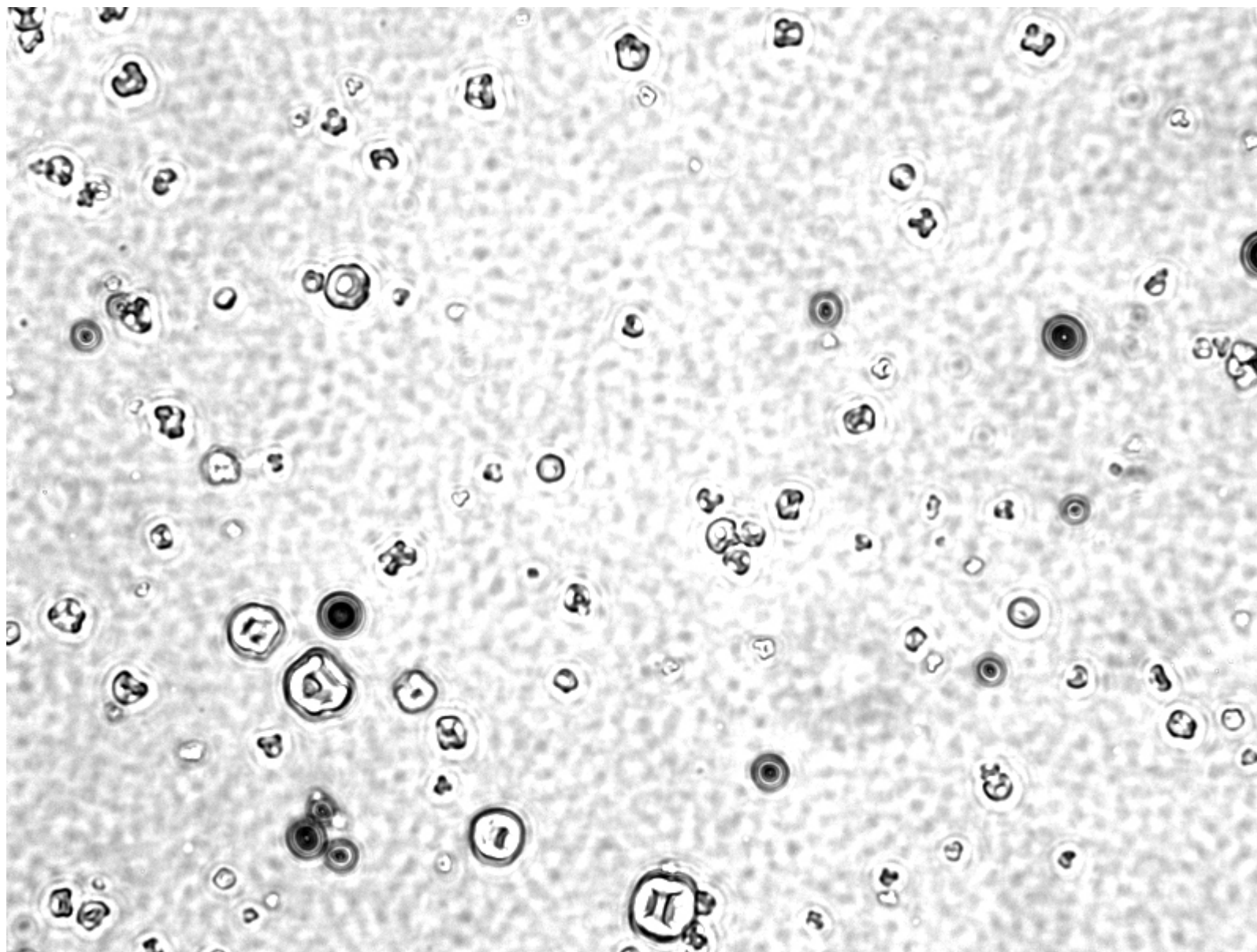
Prøve 16



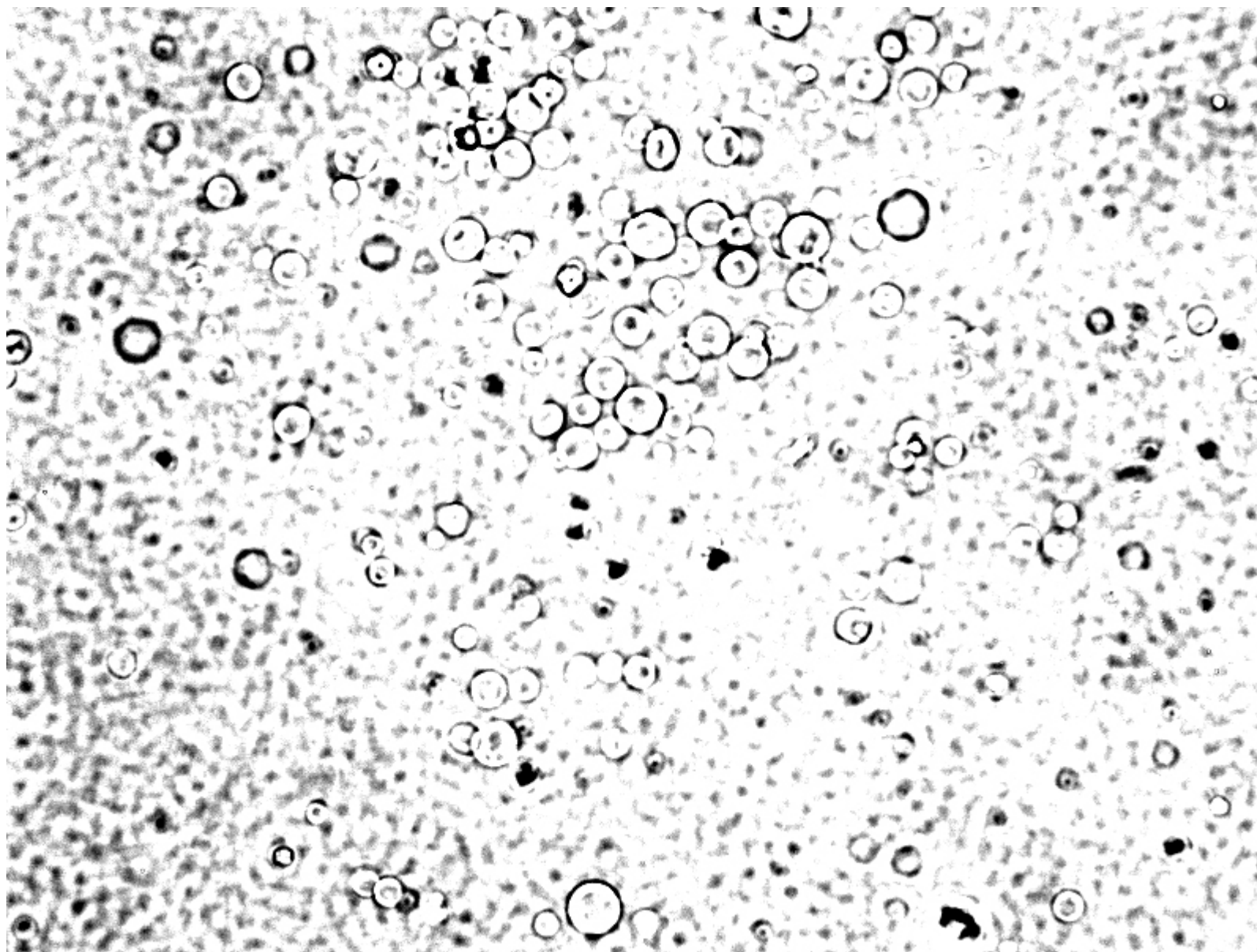
Prøve 17



Prøve 18



Prøve 19



Prøve 20